


Neue Diketopiperazine**Publication number:** DE19937721**Publication date:** 2001-02-15**Inventor:** SCHASCHKE NORBERT (DE); MORODER LUIS (DE);
HUBER ROBERT (DE); BODE WOLFRAM (DE);
SOMMERHOFF CHRISTIAN (DE)**Applicant:** MAX PLANCK GESELLSCHAFT (DE); BYK GULDEN
LOMBERG CHEM FAB (DE)**Classification:****- International:** **A61P11/00; C07K5/02; C07K5/12; A61K38/00;**
A61P11/00; C07K5/00; A61K38/00; (IPC1-7): C07K7/02;
A61K38/07; C07K7/06**- European:** C07K5/02A; C07K5/02B; C07K5/12**Application number:** DE19991037721 19990810**Priority number(s):** DE19991037721 19990810**Also published as:** WO0110845 (A1)[Report a data error here](#)**Abstract of DE19937721**

This invention relates to compounds of formula (I) wherein M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, Y1 and Y2 have the meanings cited in the description. Said compounds are novel, effective tryptase-inhibitors.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



Europäisches
Patentamt
European Patent
Office
Office européen
des brevets

Description of DE19937721

[Print](#)

[Copy](#)

[Contact Us](#)

[Close](#)

Result Page

Notice: This translation is produced by an automated process; it is intended only to make the technical content of the original document sufficiently clear in the target language. This service is not a replacement for professional translation services. The esp@cenet@ Terms and Conditions of use are also applicable to the use of the translation tool and the results derived therefrom.

Application of the invention

The invention relates to new Diketopiperazine, which become used in the pharmaceutical industry the manufacture of medicaments.

Known technical background

In the international applications WHERE 95/32 945, WHERE 96/09 297, WHERE 98/04 537, WHERE 99/12 918 and WHERE 99/24 395 low molecular compounds become as Trypsaseinhibitoren described.

Description of the invention

It was now found that the subsequent more near described compounds of the formula particularly possess I surprising and advantageous properties.

Subject matter of the invention are compounds of the formula I

EMI1.1

where

A1 and a2 same or various are and - C (O) -, - NH, - o (oxygen), - S (sulphur), - S (O) 2-NH, - NH-S (O) 2, - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - C (S) - NH, - NH-C (S) -, - degrees (O) -, - C (O) - o or a connection mean,
A3 and A4 same or various are and - NH, - degrees (O) -, - C (O) - o, - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - S (O) 2-NH, - NH-S (O) 2 - or a connection mean,

M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI2.1

B1 a connection or a 1-4C-Alkylen means,

B2 a connection or a 1-4C-Alkylen means,

B3 and B4 same or various are and a connection, 1-4C-Alkylen or - C (R11) R12 mean, whereby R11 and R12 are together and bottom inclusion of the carbon atom to both bound, a spiro linked 3, 4, 5 - or 6-gliedrigen satisfied hydrocarbon ring represent,

Y1 and Y2 same or various are and a group from the subsequent revue represent

EMI2.2

EMI3.1

how

X selected is from one of the subsequent groups

EMI3.2

R2 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,

R3 hydrogen, 1-4C-Alkyl or a group from the subsequent revue represents

EMI3.3

or whereby R2 and R3 together and bottom inclusion of the nitrogen atom, to which both bound are a group from the subsequent revue represent

EMI3.4

how

R31 hydrogen, 1-4C-Alkyl or 1-4C-Afkoxo means,

R32 hydrogen, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxycarbonyl, Phenyl-1-4C-alkoxycarbonyl, carboxyl, mono or Di-1-4C-alkylaminocarbonyl and

▲ top

R33 hydrogen, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl or Hydroxymethylcarbonyl mean,
 R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl or a group from the subsequent revue represents

EMI3.5

EMI4.1

how

R41 hydrogen or 1-4C-Alkyl, and

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl or Phenyl-1-4C-alkyl means,

R5 hydrogen, 1-4C-Alkyl or a group from the subsequent revue represents

EMI4.2

R6 hydrogen, - C (O) - OR61 or - C (O) - NHR61 means, how

R61 1-4C-Alkyl or Phenyl-1-4C-alkyl means,

and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40, preferred 25 to 40 connections present must be,

as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded it would come, with those or the several variables a B1, a B2, a B3 or a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two Heteroatome, two carbonyl groups or two sulfonyl groups.

1-4C-Alkylen stands for straight or branched 1-4C-Alkylenreste, for example the methylen (- CH₂), ethyl (- CH₂-CH₂), tri trimethylen (- CH₂-CH₂-CH₂), Tetramethylen (- CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), 1,2-Dimethylethylen [- CH (CH₃) - CH (CH₃) -], 1,1-Dimethylethylen [- C (CH₃) 2-CH₂], 2,2-Dimethylethylen [- CH₂-C (CH₃) 2], Isopropyliden [- C (CH₃) 2] or the 1-Methylethylenrest [- CH (CH₃) - CH₂] for.

As spiro linked 3, 4, 5 - or 6-gliedriger satisfied hydrocarbon ring is the Cyclopropan, dor cyclobutane, dor Cyclopontan and the cyclohexane ring mentioned.

1-4C-Alkyl stands for straight or branched alkyl radicals with 1 to 4 carbon atoms. For example the mentioned Butyl, ISO Butyl, is seconds. - Butyl, third. - Butyl, Propyl, Isopropyl, ethyl and the methyl radical.

1-4C-Alkoxy stands for remainders, which contain a straight or branched alkyl radical with 1 to 4 carbon atoms beside the oxygen atom. For example the mentioned Butoxy, ISO Butoxy, is seconds. - Butoxy, third. - Butoxy, Propoxy, Isopropoxy and the preferred Ethoxy and Methoxyrest.

1-4C-Alkoxy carbonyl stands for a carbonyl group, to which one is that 1-4C-Alkoxyreste managing specified bound. For example the Methoxycarbonyl [CH₃O-C (O) -] and the Ethoxycarbonylrest [CH₃CH₂O-C (O) -] are mentioned.

Phenyl-1-4C-alkoxy carbonyl stands for that for one 1-4C-Alkoxyreste managing specified, is bound to which a phenyl ring. For example the Benzyloxy carbonylrest is mentioned.

Mono or Di-1-4C-alkylaminocarbonylreste contains beside the carbonyl group a mono and/or. Di-1-4C-alkylaminorest. For example mentioned is that N-methyl, the N, N-Dimethyl, that N-ethyl, the N-Propyl, the N, N-Diethyl and the N-Isopropylaminocarbonylrest.

1-4C-Alkylsulfonyl stands for a sulfonyl group, to which one is that 1-4C-Alkylreste managing specified bound. For example the methyl sulphonyl remainder (CH₃SO₂) is mentioned.

▲ top

1-4C-Alkylcarbonyl stands for a remainder, which contains beside the carbonyl group one that of 1-4C-Alkylreste managing specified. For example the acetyl residue is mentioned.

Phenyl-1-4C-alkyl stands for the 1-4C-Alkylreste substituted specified above by Phenyl for one. For example the Phenethyl and the benzyle remainder are mentioned.

Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl stands for a remainder, which contains beside the carbonyl group one that of Phenyl-1-4C-alkylreste managing specified. For example the Phenylacetylrest is mentioned.

The definitions of M, Y1, Y2, X, R3, R4 and R5 contain chemical formulas as for the example

EMI5.1

Single linked connections do not mean here that the building block in this place with the remainder of the molecule is linked. Bilaterally not linked connections mean that there are several sites at this building block, by which the compound to the remainder of the molecule to be made can.

With the term terminal nitrogen atom is in the frame of this application in each case a nitrogen atom in the groups

meant designated with Y1 and Y2. The terminal nitrogen atom is thereby either a terminal amino group of the substituent X or the amino group of the 2-Amino-Pyrid-5-yl grouping.

The bottom according to invention becomes direct path between the nitrogen atoms, which function in the groups defined as Y1 or Y2 as terminal nitrogen atoms, that number of connections considered, which becomes obtained by counting the connections, which represent those to shortest possible connecting line between the terminal nitrogen atoms.

The subsequent example is to clarify the determining the number of the connections on the direct path between two terminal nitrogen atoms:

EMI6.1

The direct path included here 30 connections.

As salts all acid addition salts or all salts with bases come into considerations for compounds of the formula I - depending upon substitution -. Particularly mentioned is the pharmacological acceptable salts in the Galenik usually used inorganic and organic acidic one. When such own itself on the one hand water-soluble and water-insoluble acid addition salts with acidic ones as for example hydrochloric acid, hydrobromic acid, phosphoric acid, nitric acid, sulfuric acid, acetic acid, trifluoroacetic acid, citric acid, D-gluconic acid, benzoic acid, 2 (4-Hydroxybenzoyl) - benzoic acid, butyric acid, Sulfosalicylsäure, maleic acid, lauric acid, malic acid, fumaric acid, Bernsteinsäure, oxalic acid, tartaric acid, Embonsäure, stearic acid, Toluolsulfonsäure, methanesulfonic acid or 3-Hydroxy-2-naphthoesäure, whereby the acidic ones during the salt production - according to whether it concerns an in or a polybasic acid and depending on, which salt becomes desired - in the equimolar or a proportion different of it used become.

On the other hand also salts with bases come into considerations. As examples for salts with bases are alkali (lithium, sodium, potassium) or calcium, aluminum, magnesium, titanium, ammonium, Meglumin or Guanidinumsalze mentioned, whereby become used also during the salt production the bases in the equimolar or a proportion different of it here.

Pharmacological incompatible salts, which can result for example with the preparation of the compounds according to invention in the industrial scale as procedure products first, become through the person skilled in the art prior art methods into pharmacological acceptable salts converted.

The person skilled in the art is known that the compounds according to invention and their salts, if they become the example in crystalline form isolated can contain various amounts of solvent. The invention covers therefore also all Solvate and in particular all hydrates of the compounds of the formula I, as well as all Solvate and in particular all hydrates of the salts of the compounds of the formula I.

Compounds of the formula I which can be emphasized are such, where
 A1 and a2 same or various are and - C (O) -, - NH, - o (oxygen), - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - degrees (O) -, - C (O) - o or a connection mean,
 A3 and A4 same or various are and - NH, - degrees (O) -, - C (O) - o, - C (O) - NH, - NH-C (O) - or a connection mean,
 M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI7.1



top

B1 a connection or a 1-4C-Alkylen means,
 B2 a connection or a 1-4C-Alkylen means,
 B3 and B4 same or various are and a connection or a 1-4C-Alkylen mean,
 Y1 and Y2 same or various are and a group from the subsequent revue represent

EMI8.1

how

X selected is from one of the subsequent groups

EMI8.2

R2 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
 R3 hydrogen, 1-4C-Alkyl or benzyle means,
 or whereby R2 and R3 together and bottom inclusion of the nitrogen atom, to which both bound are a group from the subsequent revue represent

EMI8.3

how

R33 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
 R4 1-4C-Alkylcarbonyl means,
 R5 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
 and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40, preferred 25 to 40 connections present must be,

as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded it would come, with those or the several variables a B1, a B2, a B3 or a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two Heteroatome or two carbonyl groups.

Compounds of the formula I particularly which can be emphasized are such, where
A1 and a2 same or various are - C (O) - NH or - NN-C (O) - mean,
A3 and A4 same or various are and - C (O) - NH or a connection mean,
M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI9.1

B1 1-4C-Alkylen means,
B2 1-4C-Alkylen means,
B3 and B4 same or various are and a connection or a 1-2C-Alkylen mean,
Y1 and Y2 same are and a group selected from the subsequent revue represent

EMI9.2

and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40, preferred 25 to 40 connections present must be,
as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded, with which one or both variables a B3 and a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two carbonyl groups it would come.

Preferred compounds of the formula I are

(3S, 6S) - 3,6-Di (4 - 3 [1 (4-carbamimidoylbenzyl) - 2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl] - propanoylamino butyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6S) - 3,6-Di 4 [2-acetylamino-3 (4-aminomethylphenyl) - propanoylamino] - butyl-1,4H-2,5-dioxopiperazin;
< DP N=10> (3S, 6R) - 3,6-Di ([2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin; < BR > (3S, 6S) - 3,6-Di ([2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6R) - 3,6-Di ([2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin; and
(3S, 6S) - 3,6-Di ([2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin;
as well as the salts of these compounds.

With the compounds of the formula I it acts around chiral compounds with several Chiralitätszentren. The invention covers therefore all conceivable pure Diastereomeren and Enantiomeren and their mixtures in each mixing ratio, including the Racemate.

The compounds of the formula I consist of a variety more divalenter (M, A1, a2, A3, A4, B1, B2, B3, B4) and from two monovalent building blocks (Y1 and Y2). Their synthesis can take place in principle on the basis of each of these building blocks. With to a large extent symmetrical constructed compounds of the formula I the structure offers itself to incipient from the central component M, while with predominant unsymmetrical compounds of the formula I the synthesis can be favourable on the basis of one of the end groups Y1 or Y2.

The linkage of the building blocks made thereby always after the same, the person skilled in the art actual known patterns.

▲ top

The person skilled in the art is known that the compounds of the formula I either building block for building block constructed to become to be able, or that first larger fragments created existing from several single components to become to be able, which become subsequent the entire molecule composed.

Due to the importances, which can accept the single building blocks of the compounds of the formula I, step in the compounds of the formula I revision modification NO [- NH], ethers [- o], thioether [- S], Keto [- C (O) -], ester [- degrees (of O) -], - C (O) - o], amide [- C (O) - NH, - NH-C (O) -], sulphonamide [- SO2-NH, - NH-SO2], carbamat [- NH-C (O) - o, - degrees (of O) - NH], Carbamid [- NH-C (O) - NH] or carbonate bridges [- degrees (O) - o] up.

The way, how such bridges become prepared, are the person skilled in the art actual known, suitable methods and starting compounds to its preparation become for example in March, Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure, Third edition, 1985, John Wiley & Sons described.

Ether and Thioetherbrücken can become for example after the method of Williamson prepared.

Ketobrücken can for example as constituent of larger building blocks, like z. B. the 1,3-Dichloraceton introduced become.

Sulphonyl bridges can become for example by oxidation of Thioetherbrücken obtained.

For the structure of ester bridges a variety of methods is known. Exemplarily mentioned is here the conversion of acidic ones with alcohols, preferably using H₂SO₄ or p toluenesulfonic acid as catalyst; or bottom addition of an water-extracting agent, like for the example molecular sieve or a carbodilimide. Furthermore the conversion of acid chlorides with alcohols can become mentioned here.

Also for the representation of amide bridges there is a variety known methods. As example here the conversion of acid chlorides with primary or secondary amines is mentioned. Furthermore is referred also to all the methods, which became developed for the Peptidchemie. Corresponding ones can be composed of sulfone acidic chloride and primary or secondary amines sulfone amide bridges.

Carbamatbrücken know z. B. by response of chlorine carbonic acid esters with amines prepared become. The chlorine carbonic acid esters for their part can become from alcohols and phosgene constructed. An other variant to the structure of Carbamatbrücken represents the addition of alcohols to Isocyanate.

Similar ones as with the Carbamatbrücken can become on the basis of chlorine carbonic acid esters by conversion with alcohols (instead of amines) carbonate bridges prepared.

Carbamidbrücken leave themselves to z. B. manufacture by the response of isocyanates with amines.

The preparation of compound of the formula I is exemplary shown on the basis the subsequent reaction patterns. Other compounds of the formula I can become analogous or bottom application listed of the above, the person skilled in the art actual known methods prepared.

Reaction pattern 1 EMI12.1

Reaction pattern 2 EMI13.1

Reaction conditions:

- a) Z-OSu/1N NaOH, Dioxan;
- b) Piperidin/EDC/HOBt, CHCl₃;
- c) HO-NH₂xHCl/DIEA, EtOH, reflux;
- d) 10% Pd-C/H₂, HOAc/EtOH (1: 2);
- e) Bernsteinsäureanhydrid/DIEA, DMF;
- f) C [Lys (HN₂) - Lys (NH₂)] (A10) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/H₂O (6: 1).

Reaction pattern 3 EMI14.1

Reaction conditions:

- a) Ac₂O/Pyridin, DMF;
- b) C [Lys (NH₂) - Lys (NH₂)] (A10) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/H₂O (3: 1);
- c) 10% Pd-C/H₂, AcOH.

▲ top

Reaction pattern 4 EMI15.1

Reaction conditions:

- a) MeOH/SOCl₂, -5 DEG C;
- b) N-Ethoxycarbonylphthalimid/Na₂CO₃, Dioxan/water (1: 1);
- c) 10% Pd-C/H₂, HOAc;
- d) (BOC) 2O/NaHCO₃, Dioxan/water (1: 1);
- e) H₂N-NH₂xH₂O/HOAc, MeOH, 50 DEG C;
- f) Z-Gly-OH/DIEA/EDC/HOBt, CHCl₃;
- g) 10%Pd-C/H₂, MeOH;
- h) C [DAsp (OH) - Asp (OH)]A7/DIEA/EDC/HOBt, DMF;
- i) 95 per cent TFA, 0 DEG C - > Blank

In reaction pattern 1 various variants for the synthesis of the Diketopiperazinbausteins M shown become. As starting products for the Diketopiperazinbausteine a variety of amino acids, z are suitable. B. D- and L aspartic acid, D and L

glutamic acid, D and L lysine, D and L tyrosine or D and L-hydroxyproline. Other suitable starting products are Indanderivate, like z. B. 2,5-Diaminoindan-2-carbonsäure. The Tetrahydro-2,4a, 6,8a-tetraaza-anthracen-3,7,9,10-tetraon building block knows z. B. on the basis of 3,5-Bismethylaminopiperazin-2,5-dion by introduction of a protecting group at the amino group (z. B. with third Butyloxycarbonyl), activation of the Piperazin of nitrogens (z. B. with (i) iodine acetic acid; (ii) Hydroxysuccinimid/Dicyclohexylcarbodiimid) and subsequent Ringschlussreaktion prepared become.

Over the choice of the Aminosäurechiralität the desired Chiralität of the Diketopiperazinbausteins can be adjusted; additional is with use of two different amino acids also the entrance to unsymmetrical Diketopiperazinbausteinen possible.

The reaction patterns 2, 3 and 4 show exemplarily the preparation of compound of the formula I. By the appropriate choice of the Chiralität of the starting compounds each desired stereochemistry of the compounds of the formula can become I prepared.

The preparation other compounds of the formula I is in the subsequent examples described.

In addition the person skilled in the art known that it can be in the case of several reactive centers at an output or an intermediate compound necessary to block or several reactive centers more temporary by protecting groups in order a response is targeted at the desired reaction center run off to be let. A detailed description to the application of a variety preserved protecting groups is for example in T. W. Greene, Protective Groups in Organic synthesis, John Wiley & Sons, 1991.

The isolation and purification of the substances according to invention made in actual known manner z. B. in such a manner the fact that one the solvent in the vacuo abdestilliert and recrystallizes the obtained residue from a suitable solvent or subjects to one of the conventional cleaning methods, as for example the column chromatography at suitable carrier material.

One receives salts by dissolving the free compound in a suitable solvent (z. B. a Keton, like acetone, methyl ethyl ketone or methyl isobutyl ketone, an ether, like diethyl ethers, tetrahydrofuranes or Dioxan, a chlorinated hydrocarbon, like methylene chloride or chloroform, or a low molecular aliphatic alcohol such as ethanol or isopropanol), that the desired acidic one and/or. Base contains, or that the desired acidic one and/or. Base subsequent added becomes. The salts become by filtration, falling down, failures with a nonsolvent for the accumulation salt or by evaporation of the solvent recovered. Obtained salts can by alkalization and/or. by acidifying into the free compounds converted become, which again into salts converted to become to be able. In this way pharmacological acceptable salts cannot be converted into pharmacological acceptable salts.

The subsequent examples serve the closer explanation of the invention without it to limit. Likewise other compounds of the formula can become I, whose preparation is not explicit described, in analogous or in the person skilled in the art an actual familiar manner bottom application conventional process engineering prepared.

In the subsequent examples the abbreviation blank stands for room temperature, min for minutes, h for hours, more ber, for calculated, lifted for 1-Hydroxy-1H-Benzotriazol, DCC for N, N' for dicyclohexylcarbodiimide, EDC for N' (3-Dimethylaminopropyl) - N-ethylcarbodiimid, DIEA for diisopropylethylamine, TFA for trifluoroacetic acid, HOSu for N-hydroxysuccinimide, Z-OSu for n (Benzyloxycarbonyloxy) - succinimid, RP HPLC for Reverse phase High Pressure liquid Chromatography, DC for thin layer chromatography and ESI-MS for electrical spray mass spectrometry. The compounds exemplarily specified and their salts are preferred subject matter of the invention.

▲ top

Examples

Final connections

1. Beep DLPhe (4-H₂N (NH=) C) - CO (CH₂) CO-C [Lys Lys] - CO (CH₂) 2CO-DLPhe (4-H₂N (NH=) C) - Pipx2TFA [(3S, 6S) - 3,6-Di (4 - 3 [1 (4-carbamimidoylbenzyl) - 2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl] - propanoylamino butyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazinx2TFA] EMI18.1

HO₂C (CH₂) 2CO-DLPhe (4-H₂N (HN=) C) - PipxHCl (136.7 mg, 0.332 mmol, A20), C [Lys (NH₂) - Lys (NH₂)]x2 HCl (50.0 mg, 0.152 mmol, A10) and DIEA (52 µl, 0.304 mmol) dissolved in 3.5 ml DMF/H₂O (6: 1) using EDC (69.9 mg, 0.364 mmol) (49.2 mg, 0.364 mmol) coupled are /HOBt. After 16 h the Solvents in the high vacuum withdrawn and the obtained oil becomes 2 - times treated with toluene. The crude product becomes by precipitation from MeOH/ethyl acetates isolated and purified by preparative RP-HPLC (Nucleosil 5 C-18 (Macherey nail); Eluenten: (A) 0.1%ige aqueous TFA, (B) 0.08% TFA in acetonitrile; Elution profile: 0-5 min isokratisch 5% B, 5-10 min linear gradient from 5% B to 18% B, 10< - 90> min linear gradient from 18% B to 60% B) and lyophilized. Yield: 64.6 mg; DC (chloroform/Methanol/25% ammonia 20: 20 : 9) Kr = 0,20; < 1> H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): to delta = 1.10-1.80 (to 3 br m, 24H, 2xCH₂CH₂-CH₂ beep, 2x beta CH₂ Lys, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys), 2.14-2.40 (br m, 8H, 2xCO-CH₂CH₂-CO), 2.80-3.60 (5 m, 16H, 2x beta CH₂ Phe (4-NH₂ (NH=) C), 2x epsilon CH₂ Lys,

4xN-CH₂ beep, partial lap with the water signal of the DMSO), 3,80 (m, 2H, 2x alpha CH₂ Lys, lap with the water signal of the DMSO), 4,96 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (4-NH₂ (NH=) C)), 7,45, 7,72 (2d, 8H, J = 8,0 Hz, 2xC₆H₄ Phe (4-NH₂ (NH=) C)), 7,75 (m, 2H, 2x epsilon NH Lys), 8,08 (s, 2H, 2x alpha NH Lys), 8,34 (d, 2H, J = 8,0 Hz, 2x alpha NH Phe (4-NH₂ (NH=) C)), 9,05, 9,23 (2 s, 8H, 2xH₂N (H₂N=); ESI-MS: m/z = 485.6 [M+2H]⁺ < 2+ > more ber. for C₅₀H₇₂N₁₂O₈: 968,55.

2. AC-DLPhe (4-H₂ N-CH₂) - C [Lys Lys] - DLPhe (4-H₂N-CH₂) - Acx₂TFA [(3S, 6S) - 3,6-Di 4 [2-acetylamino-3 (4-aminomethylphenyl) - propanoylamino] - butyl 1,4H-2,5-dioxopiperazin₂TFA]
EMI19.1

AC-DLPhe (4-CN) - C [Lys Lys] - DLPhe (4-CN) - AC (100.0 mg, 0.15 mmol, A25) become catalytic reduced in 15 ml glacial acetic acid dissolved and (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar). After 48 h catalyst filtered, which solvent withdrawn, which sonifiziert obtained oil with ethyl acetate staggered, the formed precipitation abzentrifugiert, with ethyl acetate, third butyl methyl ether and petroleum ether washed and in the vacuo dried. The obtained crude product becomes purified by preparative RP-HPLC (Nucleosil 5 C-18 (Macherey nail); Eluenten: (A) 0,1%ige aqueous TFA, (B) 0,08% TFA in acetonitrile; Elution profile: 0-5 min isokratisch 3% B, 5-90 min linear gradient from 3% B to 60% B) and lyophilized. Yield: 40,2 mg; DC (chloroform/Methanol/25% ammonia 12: 9 : 4) R_f = 0,7; HPLC t_R = 3.4 min; < 1 > H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1.24-1.43, 1.56-1.73 (2 br m, 12H, 2x beta CH₂ Lys, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys), 1,75 (s, 6H 2xC (O) CH₃), 2,73 (m, 2H, 2x beta 2CH₂ Phe (4-H₂NCH₂)), 2,97 (m, 2H, 2x beta 1CH₂ Phe (4 - H₂NCH₂)), 3,03 (m, 4H, 2x alpha CH₂ Lys), 3,78 (m, 2H, 2x alpha CH₂ Lys), 3,98 (s, 4H, 2xCH₂NH₃ Phe (4 - H₂NCH₂)), 4,43 (m, 2H, 2x alpha CH₂ Phe (4-H₂NCH₂)), 7,27 (d, 4H, J = 8,1 hzs, 2xC₆H₄ Phe (4-H₂NCH₂)), 7,34 (d, 4H, J = 8,1 hzs, 2xC₆H₄ Phe (4-H₂NCH₂)), 7,94 (m, 2H, 2x epsilon NH Lys), 8,06 (br s, 6H, 2xCH₂NH₃ Phe (4-H₂NCH₂)), 8,08 (s, 2H, 2x alpha NH Lys); ESI-MS: m/z = 693.6 [M+H]⁺ < + > ; more ber. for C₃₆H₅₂N₈O₆: 692,40.

3. MeO DLPhe (4-H₂N-CH₂) - Gly C [DAsp Asp] - Gly DLPhe (4-H₂N-CH₂) - OMex₂TFA [(3S, 6R) - 3,6-Di ([2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin₂TFA]
EMI19.2

MeO DLPhe (4-CN) - Gly C [DAsp Asp] - Gly DLPhe (4-CN) - OMe (50.0 mg, 0.07 mmol, A27) became catalytic reduced in 75 ml glacial acetic acid dissolved and (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar). After 24 h the catalyst becomes filtered, which solvent withdrawn, which residue with toluene treated, in methanol dissolved, third butyl methyl ether added, which abzentrifugiert formed flaky precipitation, with third butyl methyl ether as well as petroleum ether washed and in the vacuo dried. The obtained crude product becomes purified by preparative RP-HPLC (Nucleosil 5 C-18 (Macherey nail); Eluenten: (A) 0,1%ige aqueous TFA, (B) 0,08% TFA in acetonitrile; Elution profile: 0-5 min isokratisch 5% B, 5-10 min linear gradient from 5% B to 18% B, 10-90 min linear gradient from 18% B to 60% B) and lyophilized. Yield: 27,0 mg; HPLC t_R = 6.1 min; < 1 > H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 2.53-2.70, 2,92, 3,05 (3 m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (4-H₂NCH₂), 2x beta CH₂ Asp), 3,60 (s, 6H, 2xOCH₃), 3,68 (m, 4H, 2x alpha CH₂ Gly), 4,00 (m, 4H, 2xCH₂NH₃ Phe (4-H₂NCH₂)), 4,15 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 4,46 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (4-H₂NCH₂)), 7,26, 7,36 (2 m, 8H, 2xC₆H₄ Phe (4-H₂NCH₂)), 7,91, 8.10-8.30, 8,39 (3 m, 12H, 2x alpha NH Asp, 2x alpha NH Gly, 2x alpha NH Phe (4-H₂NCH₂), 2xCH₂NH₃ Phe (4-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 725.4 [M+H]⁺ < + > ; more ber. for C₃₄H₄₄N₈O₁₀: 724,31.

4. MeO DLPhe (4-H₂N-CH₂) - Gly C [Asp Asp] - Gly DLPhe (4-H₂N-CH₂) - OMex₂TFA [(3S, 6S) - 3,6-Di ([2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin₂TFA]
EMI20.1

▲ top

MeO DLPhe (4-CN) - Gly cÄAsp AspÜ Gly DLPhe (4-CN) - OMe (100.0 mg, 0.14 mmol, A26) become catalytic reduced in 75 ml glacial acetic acid dissolved and (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar). After 30 h the catalyst becomes filtered, which solvent withdrawn, which obtained oil in methanol dissolved, third butyl methyl ether added, which abzentrifugiert formed precipitation, with third butyl methyl ether as well as petroleum ether washed and in the vacuo dried. The obtained crude product becomes purified by preparative RP-HPLC (Nucleosil 5 C-18 (Macherey nail); Eluenten: (A) 0,1%ige aqueous TFA, (B) 0,08% TFA in acetonitrile; Elution profile: linear gradient from 10% B to 60% in 50 min) and lyophilized. Yield: 25,0 mg; HPLC t_R = 4.5 min; ESI-MS: m/z = 725.4 ÄM+HÜ < + > ; more ber. for C₃₄H₄₄N₈O₁₀: 724,31.

5. MeO DLPhe (3-H₂ N-CH₂) - Gly C [DAsp Asp] - Gly DLPhe (3-H₂ N-CH₂) - OMex₂TFA [(3S, 6R) - 3,6-Di ((2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin₂TFA]
EMI20.2

MeO DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - Gly C (DAsp Asp) - Gly DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMe (75.0 mg, 0.08 mmol, A28) are submitted of 95 per cent trifluoroacetic acid dissolved and bottom ice bath cooling of the cleavage in 10 ml. After 4 h the acidic one in the vacuo withdrawn becomes, the residue with toluene (3-mal) treated and the title compound by precipitation from isopropanol/third butyl methyl ether as colorless powder isolated. Yield: 74.0 mg; HPLC t_R = 5.6 min; < 1 > H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 2.54-2.73, 2,93, 3,04 (3 m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (3-H₂NCH₂), 2x beta CH₂ Asp), 3,61 (s, 6H, 2xOCH₃), 3,70 (m, 4H, 2x alpha CH₂ Gly), 4,02 (m, 4H, 2xCH₂NH₃ Phe (3-H₂NCH₂)), 4,17 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 4,48 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (3-H₂NCH₂)), 7.21-7.37 (br m, 8H,

2xC₆H₄ Phe (3-H₂NCH₂)), 8,14 (br s, 6H, 2xCH₂NH₃ Phe (3-H₂NCH₂)), 7,95, 8,27, 8,37 (3 m, 6H, 2x alpha NH Asp, 2x alpha NH Gly, 2x alpha NH Phe (3-H₂NCH₂)); ESI MS: m/z = 725.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₃₄H₄₄N₈O₁₀: 724,31.

6. MeO DLPhe (3-H₂N-CH₂) - Gly C [Asp Asp] - Gly DLPhe (3-H₂N-CH₂) - OMex₂TFA [(3S, 6S) - 3,6-Di ([2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin₂TFA]

EMI21.1

MeO DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - Gly C [Asp Asp] - Gly DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMe (75.0 mg, 0.08 mmol, A29) are submitted of 95 per cent trifluoroacetic acid dissolved and bottom ice bath cooling of the cleavage in 10 ml. After 2 h the acidic one in the vacuo withdrawn becomes, the residue with toluene (3-mal) treated and the title compound by precipitation from isopropanol/third butyl methyl ether as colorless powder isolated. Yield: 65.0 mg; HPLC tR = 5.7 min; ESI-MS: m/z = 725.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₃₄H₄₄N₈O₁₀: 724,31.

Starting compounds

A1. Z-Asp (OtBu) - Asp (OtBu) - OH

EMI21.2

5.81 g (16.1 mmol) H-Asp (OtBu) - Asp (OtBu) - OH become in 100 ml Dioxan/waters 1: 1 presented, with 2,70 g (32.2 mmol) NaHCO₃ neutralized and the clear solution bottom agitation with 4,02 g (177 mmol) Z-OSu staggered. After 16 h the solvent in the vacuo nearly complete withdrawn, is acidified the water phase with KHSO₄ with ethyl acetate extracted, the ethyl acetate phase with water and satisfied saline washed, over Na₂SO₄ dried and concentrated. The obtained colorless oil is sonifiziert with third butyl methyl ether/petroleum ethers staggered and short, whereby the title compound becomes recovered as colorless powders. Yield: 7.38 g; HPLC tR = 10.8 min; ESI-MS: m/z = 495.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₂₄H₃₄N₂O₉: 494,22.

A2. Z-Asp (OtBu) - Asp (OtBu) - OSu

EMI22.1

Z-Asp (OtBu) - Asp (OtBu) - OH (3.00 g, 6.06 mmol, starting compound A1) and HOSu (0.70 g, 6.06 mmol) become in 50 ml acetonitrile dissolved and finally bottom ice bath cooling and agitation with DCC (1.25 g, 6.06 mmol) staggered. After 16 h the formed urea becomes filtered and the solvent in the vacuo withdrawn, whereby the hydroxysuccinimide ester results as colorless foam. Yield: 3.62 g; HPLC tR = 11.6 min; ESI-MS: m/z = 592.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₂₈H₃₇N₃O₁₁: 591,24.

A3. C [Asp (OtBu) - Asp (OtBu)]

EMI22.2

Z-Asp (OtBu) - Asp (OtBu) - OSu (3.62 g, 6.12 mmol, a2) are submitted to acetonitrile dissolved and the hydrogenolysis (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar) in 500 ml, whereby after short time a colorless precipitation (Diketopiperazin) forms. After 5 h chloroform added, until itself the precipitation has completely dissolved, the catalyst filtered and the solvent in the vacuo withdrawn becomes as many. The obtained residue finally becomes in chloroform dissolved, the chloroform phase with 5% KHSO₄-Lösung and satisfied saline washed over Na₂SO₄ dried and concentrated. The obtained powder is recrystallized from simmering methanol, whereby the title compound in form colorless needles becomes obtained. Yield: 1.38 g; DC (chloroform/methanol 9: 1) R_f = 0.6, DC (ethyl acetate) R_f = 0.3; HPLC tR = 8,9 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,39 (s, 18H, 2xC (CH₃)₃), 2,62 (m, 4H, 2x beta CH₂ Asp), 4,24 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 8,09 (s, 2H, 2x alpha NH Asp); ESI-MS: m/z = 343.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₆H₂₆N₂O₆: 342,17.

A4. C [Asp (OH) - Asp (OH)]

EMI22.3

C [Asp (OtBu) - Asp (OtBu)] (1.00 g, 2.92 mmol, A3) in 50 ml are submitted of 95 per cent trifluoroacetic acid dissolved and bottom ice bath cooling of the cleavage. After 5 h the acidic one in the vacuo becomes finally withdrawn, which abgefrittet residue with toluene (3-mal) treated, the obtained colorless powder with third butyl methyl ether mixed into a paste with, multiple and dried washed with third butyl methyl ether with petroleum ether with 40 DEG C in the vacuo. Yield: 0,69 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1 : 1 : 5) R_f = 0.3; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 2,65 (m, 4H, 2x beta CH₂ Asp), 4,24 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 8,06 (s, 2H, 2x alpha NH Asp), 12,30 (br s, 2H, 2xCOOH); ESI-MS: m/z = 231.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₈H₁₀N₂O₆: 230,05.

A5. Z-DAsp (OtBu) - Asp (OtBu) - OMe

EMI23.1

Z-DAsp (OtBu) - OHxH₂O (5.00 g, 19.97 mmol) and H-Asp (OtBu) - OMexH₃C-C₆H₄-SO₃H (8.24 g, 21.96 mmol) as

▲ top

well as DIEA (3.78 mL, 21.96 mmol) are /HOBt in 200 ml chloroform presented and using EDC (4.21 g, 21.96 mmol) (2.96 g, 21.96 mmol) bottom ice bath cooling coupled. After 16 h the solvent in the vacuo withdrawn, the residue in ethyl acetate picked, becomes the ethyl acetate phase in sequence with 5% KHSO₄-Lösung, 5% NaHCO₃-Lösung, water and satisfied saline washed, over Na₂SO₄ dried and concentrated. The title compound becomes from third butyl methyl ether/petroleum ether in form of colorless crystals isolated. Yield: 6,79 g; DC (cyclohexane/chloroform/glacial acetic acid 45: 45 : 10) R_f = 0,7; HPLC t_R = 12.2 min; ESI-MS: m/z = 509.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₂₅H₃₆N₂O₉: 508,24.

A6. C [DAsp (OtBu) - Asp (OtBu)]
EMI23.2

Z-DAsp (OtBu) - Asp (OtBu) - OMe (6.00 g, 11.79 mmol, A5) are submitted to methanol dissolved and the hydrogenolysis (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar) in 500 ml. After 7 h the catalyst filtered and the obtained methanolic solution becomes bottom reflux at simmering kept. After 3d the solvent in the vacuo becomes withdrawn, which separated, again in-rotated and finally the residue from simmering methanol recrystallizes residue in little chloroform dissolved solved catalyst colloidal by a milli pore filter. The title compound becomes obtained thereby as colorless, fine-crystalline material. Yield: 3.23 g; DC (ethyl acetate) R_f = 0,5; HPLC t_R = 8.3 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO d₆): delta = 1,38 (s, 18H, 2xC (CH₃) 3), 2,56 (m, 2H, 2x beta 2CH₂ Asp), 2,76 (m, 2H, 2x beta 1CH₂ Asp), 4,08 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 8,09 (s, 2H, 2x alpha NH Asp); ESI-MS: m/z = 343.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₆H₂₆N₂O₆: 342,17.

A7. C [DAsp (OH) - Asp (OH)]
EMI23.3

C [DAsp (OtBu) - Asp (OtBu)] (2.00 g, 5.84 mmol, A6) in 50 ml is submitted of 95 per cent trifluoroacetic acid dissolved and bottom ice bath cooling of the cleavage, whereby after short time a colorless, crystalline precipitation forms. After 5 h the acidic one in the vacuo becomes withdrawn, which residue with toluene (3 - times) treated, the obtained colorless powder with third butyl methyl ether mixed into a paste with, abgefrittet, multiple with third butyl methyl ether and finally with petroleum ether washed and with 40 DEG C in the vacuo dried. Yield: 1,35 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1 : 1 : 5) R_f = 0,4; ESI MS: m/z = 231.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₈H₁₀N₂O₆: 230,05.

A8. Z-Lys (BOC) - Lys (BOC) - OMe
EMI24.1

H-Lys (BOC) - OMexHCl (9.84 g, 31.9 mmol) become agitations with Z-Lys (BOC), bottom in 130 ml DMF dissolved with NMM (3,51 mL, 31,9 mmol) neutralized and - OSu (15.25 g, 31.9 mmol) staggered. After 16 h the solvent in the high vacuum withdrawn, the obtained oil in ethyl acetate picked, becomes the ethyl acetate phase in sequence with 5% KHSO₄-Lösung, 5% NaHCO₃-Lösung, water and satisfied saline washed, over Na₂SO₄ dried and concentrated. The dipeptide results thereby as colorless powder. Yield: 16,0 g; HPLC t_R = 25.8 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1.26-1.36 (m, 26H, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys, 2xC (CH₃) 3), 1.51-1.69 (m, 4H, 2x beta CH₂ Lys), 2,89 (m, 4H, 2x epsilon CH₂ Lys), 3,61 (s, 3H, OCH₃), 4,01, 4,20 (2 m, 2H, 2x alpha CH Lys), 5,02 (s, 2H, CH₂-C₆H₅), 6,70 (br s, 2H, 2x epsilon NH Lys), 7.26-7.36, (m, 6H, CH₂-C₆H₅, alpha NH Lys), 8,09 (D, 1H, J = 7,4 hzs, alpha NH Lys).

A9. C [Lys (BOC) - Lys (BOC)]
EMI24.2



Z-Lys (BOC) - Lys (BOC) - OMe (15.4 g, 24.7 mmol, A8) are submitted in 165 ml MeOH dissolved, with glacial acetic acid (1.41 mL, 24.7 mmol) staggered and the hydrogenolysis (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar). After terminated conversion the catalyst becomes filtered, which umgefällt solvents withdrawn and the obtained oil from MeOH/Diethylether. The obtained material becomes heated without other purification in a mixture from EtOH/MeOH/Aceton dissolved and for 16 h to 55 DEG C. After withdrawal of the solvent the obtained colorless powder with diethyl ether is digested and finally in the vacuo with 60 DEG C dried. Yield: 10.0 g; HPLC t_R = 9.4 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,37 (m, 26H, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys, 2xC (CH₃) 3), 1.57-1.72 (m, 4H, 2x beta CH₂ Lys), 2,89 (m, 4H, 2x epsilon CH₂ Lys), 3,78 (m, 2H, 2x alpha CH Lys), 6,70 (m, 2H, 2x epsilon NH Lys), 8,09 (s, 2H, 2x alpha NH Lys); ESI-MS: m/z = 457.4 [M+H] < +> ; more ber, for C₂₂H₄₀N₄O₆: 456,29.

A10. C [Lys (NH₂) - Lys (NH₂)]x2HCl
EMI25.1

C [Lys (BOC) - Lys (BOC)] (10.0 g, 21.9 mmol, A9) suspended become in 70 ml HCl in Dioxan (1.7 N). After 15 h the solvent in the water jet vacuum withdrawn, the obtained solid residue with diethyl ether is digested and finally with 60 DEG C in the vacuo dried. Yield: 7,15 g; DC (chloroform/Methanol/25% ammonia 12: 9 : 4) R_f = 0,25; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1.25-1.86 (3 m, 12H, 2x beta CH₂ Lys, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys), 2,74 (m, 4H, 2x epsilon CH₂ Lys), 3,83 (m, 2H, 2x alpha CH Lys), 8,07 (br s, 6H, 2x epsilon NH₃ < +> Lys), 8,09 (s, 2H, 2x alpha NH Lys); ESI-MS: m/z = 257.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₂H₂₄N₄O₂: 256,18.

A11. H-DLPhe (3-CN) - OMexHCl
EMI25.2

To 24 ml cooled methanol (isopropanol dry ice bath, approx. -15 DEG C) are course-dripped bottom agitation slow 6.4 ml (87.2 mmol) thionyl chloride and registered finally 15.0 g (78.9 mmol) H-DLPhe (3-CN) - OH, so that the temperature does not rise over -5 DEG C. Subsequent one is left untouched still with methanol diluted and the reaction mixture for 2 h to 40 DEG C heated and still 16 h with blank. The solvent is umgefällt in the vacuo withdrawn and the colorless residue twice from methanol/third butyl methyl ether. The methyl esters becomes thereby in form of colorless crystals recovered. Yield: 16,0 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1 : 1 : 5) Rf = 0,4; ESI-MS: m/z = 205.2 [M+H] < +> ; more ber. for C11H12N2O2: 204,08.

A12. Pht DLPhe (3-CN) - OMe
EMI25.3

H-DLPhe (3-CN) - OMexHCl (15.0 g, 62.3 mmol, A11) and 6.6 g (62.3 mmol) Na2CO3 become in 300 ml Dioxan/waters 1: 1 presented and to the solution bottom agitation 15.7 g (71.6 mmol) N-Ethoxycarbonylphthalimid added. After 1 h again 6.8 g (31.1 mmol) become N-Ethoxycarbonylphthalimid added. After 16 h the solvent in the vacuo withdrawn, the residue in ethyl acetate picked, becomes the ethyl acetate phase with 5% KHSO4-Lösung and satisfied saline washed, over Na2SO4 dried and concentrated. The oily residue is umgefällt from third butyl methyl ether/petroleum ether, whereby the title compound results as colorless, fine-crystalline material. Yield: 17,8 g; DC (cyclohexane/chloroform/glacial acetic acid 45: 45 : 10) Rf = 0,8; HPLC tR = 11.1 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): delta = 3,33 (m, 1H, beta 2CH2 Phe (3-CN)), 3,57 (m, 1H, beta 1CH2 Phe (3-CN)), 3,69 (s, 3H, OCH3), 5,34 (m, 1H, alpha CH Phe (3-CN)), 7,39, 7,50, 7,61, 7,70 (4 m, 4H, C6H4 Phe (3-CN)), 7,86 (s, 4H, Pht); ESI-MS: m/z = 335.2 [M+H] < +> ; more ber. for C19H14N2O4: 334,09.

A13. Pht DLPhe (3-BOC-NH-CH2) - OMe
EMI26.1

Pht DLPhe (3-CN) - OMe (1.0 g, 3.0 mmol, A12) are submitted to glacial acetic acid dissolved and the reduction in 80 ml (100 mg 10%Pd-C, p (H2) = 1 bar). After 24 h the solvent in the vacuo becomes withdrawn and the obtained oil 3-mal with toluene treated. The so obtained Aminomethylverbindung becomes without other purification in 50 ml Dioxan dissolved, 0.8 g (4.5 mmol) (BOC) 2O added and finally bottom agitation a slow solution of 0,25 g (3.0 mmol) NaHCO3 course-dripped into 50 ml waters. Thereupon the solvent in the vacuo withdrawn, the residue in ethyl acetates picked and the ethyl acetate phase in sequence with 5% NaHCO3-Lösung, becomes 5% KHSO4-Lösung and satisfied saline washed, over Na2SO4 dried and concentrated. The obtained crude product becomes purified by chromatography at silica gel (20 g silica gel 60, Eluent: Ethyl acetate/petroleum ether 1: 2). The title compound becomes isolated thereby as colorless foam. Yield: 0.75 g; DC (ethyl acetate/petroleum ether 1: 2) Rf = 0,4; HPLC tR = 12.1 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): delta = 1,35 (s, 9H, C (CH3) 3), 3,30 (m, 1H, beta 2CH2 Phe (3-H2NCH2)), 3,47 (m, 1H, beta 1CH2 Phe (3-H2NCH2)), 3,69 (s, 3H, OCH3), 3,96 (D, 2H, J = 6,1 hzs, CH2NHBOC Phe (3-H2NCH2)), 5,22 (m, 1H, alpha CH Phe (3-H2NCH2)), 6,96-7,16 (2 m, 4H, C6H4 Phe (3-H2NCH2)), 7,21 (m, 1H, CH2NHBOC Phe (3-H2NCH2)), 7,84 (s, 4H, Pht); ESI-MS: m/z = 439.2 [M+H] < +> ; more ber. for C24H26N2O6: 438,17.

A14. H-DLPhe (3-BOC-NH-CH2) - OMexHCl
EMI26.2

In 50 ml methanol 1.46 become ml (25.5 mmol) glacial acetic acid, as well as 1.24 ml (25.5 mmol) hydrazine hydrate presented, Pht DLPhe (3-BOC-NH-CH2) - OMe (3.72 g, 8.49 mmol, A13) bottom agitations added and the reaction solution on 50 DEG C heated. After 8 h again 3 equivalents (25.5 mmol) become Hydraziniumacetat added and the reaction mixture further on 50 DEG C kept. After 16 h the Roaktionsgemisch in the vacuo becomes concentrated on a small volume, which abzentrifugiert failed Phthalhydrazid, which methanol phase concentrated, which obtained oil in waters dissolved and the again formed precipitation abzentrifugiert. By addition from NaHCO3 the pH value of the water phase on approx. becomes. 10 adjusted, with chloroform (5-mal 100 ml) extracted, the combined chloroform phases over Na2SO4 dried and concentrated. The obtained oil becomes in methanol dissolved, the pH value with 6N HCl in Dioxan on approx. 3 adjusted and concentrated. The title compound becomes then recovered by falling down from isopropanol/third butyl methyl ether as colorless powders. Yield: 1,90 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1 : 1 : 5) Rf = 0,4; HPLC tR = 7.5 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): delta = 1,39 (s, 9H, C (CH3) 3), 3,05 (m, 1H, beta 2CH2 Phe (3-H2NCH2)), 3,17 (m, 1H, beta 1CH2 Phe (3-H2NCH2)), 3,66 (s, 3H, OCH3), 4,11 (D, 2H, J = 5,9 hzs, CH2NHBOC Phe (3-H2NCH2)), 4,23 (m, 1H, alpha CH Phe (3-H2NCH2)), 7,04-7,31 (3 m, 4H, C6H4 Phe (3-H2NCH2)), 7,35 (m, 1H, CH2NHBOC Phe (3-H2NCH2)), 8,61 (br s, 3H, alpha NH3 Phe (3-H2NCH2)); ESI-MS: m/z = 309.4 [M+H] < +> ; more ber. for C18H24N2O4: 308,17.

A15. Z-DLPhe (4-CN) - OH
EMI27.1

2.00 g (11.3 mmol) H-DLPhe (4-CN) - OH become in 20 ml Dioxan suspended with 11,3 ml 1N sodium hydroxide solution neutralized and finally bottom agitations with Z-OSu (3.39 g, 13.6 mmol) staggered. After 16 h the solvent in the vacuo up to a small volume withdrawn, with 5% KHSO4 solution, is acidified with ethyl acetate extracted, the ethyl acetate phase with water and satisfied saline washed and over Na2SO4 dried. The protected amino acid

▲ top

becomes finally isolated by precipitation from ethyl acetate/petroleum ether in form of colorless crystals. Yield: 3.26 g; DC (chloroform/methanol 4: 1) Rf = 0,3; ESI-MS: m/z = 325.2 [M+H] < +> ; more ber. for C18H16N2O4: 324,11.

A16. Z-DLPhe (4-CN) - beep
EMI27.2

Z-DLPhe (4-CN) - OH (3.00 g, 10.81 mmol, A15) and 1.15 ml (11.60 mmol) piperidine are /HOBt in 100 ml CHCl3 dissolved and using EDC (2.22 g, 11.60 mmol) (1.46 g, 10.81 mmol) in the ice bath coupled. After 16 h the solvent in the vacuo withdrawn, the oily residue with ethyl acetate picked, finally becomes the ethyl acetate phase with 5% KHSO4-Lösung, 5% NaHCO3-Lösung and satisfied saline washed and over NaSO4 dried. The title compound becomes isolated in form of a colorless powder by twice falling down from ethyl acetate/petroleum ether. Yield: 2.41 g; DC (cyclohexane/chloroform/acetonitrile 10: 25 : 10) Rf = 0,6; ESI-MS: m/z = 392.0 [M+H] < +> ; more ber. for C23H25N3O3: 391,18.

A17. Z-DLPhe (4-H2N (HON =) C) - beep
EMI28.1

Z-DLPhe (4-CN) - beep (1.00 g, 2.55 mmol, A16), to hydroxyl amine hydrochloride (0.27 g, 3.82 mmol) and DIEA (0.66 mL, 3.82 mmol) become in 20 ml ethanol suspended and in the oil bath bottom reflux heated, whereby after short time a colorless precipitation forms. After 2 h the reaction mixture in the ice bath finally becomes cooled, which abgefrittet precipitation, little with cold ethanol and with diisopropyl ether and petroleum ether washed, whereby the Hydroxyamidin becomes obtained as colorless powders. Yield: 0.90 g; DC (ethyl acetate/n butane oil/glacial acetic acid/water 5: 3 : 1 : 1) Rf = 0,75; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): delta = 1.20-1.60 (to 3 br m, 6H, CH2-CH2CH2 beep), 2.76-2.95 (2 m, 2H, beta CH2 Phe (4-H2N (HON=) C)), 3.30-3.50 (to 2 br m, 4M 2xN-CH2 beep), 4,66 (m, 1H, alpha CH Phe (4-H2N (HON=) C)), 4,96 (m, 2H, CH2-C6H5), 5,72 (s, 2H, NH2), 7.20-7.37, 7.55-7.63 (2 m, 10H, alpha NH Phe (4-H2N (HON=) C), C6H4 Phe (4-H2N (HON=) C), CH2-C6H5), 9,55 (s, 1H, N-OH); ESI-MS: m/z = 425.2 [M+H] < +> more ber. for C23H28N4O4: 424,21.

A18. H-DLPhe (4-H, N (HN =) C) - Pipx2 HCl
EMI28.2

Z-DLPhe (4-H2N (HON =) C) - beep (0.70 g, 1.65 mmol, A17) become in 60 ml HOAc/EtOH (1: 2) suspended and in presence of 100 mg 10% Pd-C with blank of the hydrogenolysis submitted (p (H2) = 1 bar), whereby after approximately. into solution goes to 30 min the material complete. After 16 h the catalyst filtered becomes, the solvent in the vacuo withdrawn and the residue 3-mal with toluene treated. The obtained material becomes then twice in few MeOH dissolved, with 1 ml 6 N HCl in Dioxan staggered and concentrated. To hydrochloride becomes isolated by precipitation from MeOH/Dioxan as colorless powders. Yield: 0.52 g; DC (chloroform/Methanol/25% ammonia 12: 9 : 4) Rf = 0,35; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): to delta = 1,05, 1.30-1.60 (to 2 br m, 6H, CH2-CH2CH2 beep), 2.97-3.54 (5 m, 6H, beta CH2 Phe (4-H2N (HN=) C), 2xN-CH2 beep, partial lap with the water signal of the DMSO), 4,70 (m, 1H, alpha CH Phe (4-H2N (HN=) C)), 7,48, 7,88 (2 D, 4H, J = 8,0 hzs, C6H4 Phe (4-H2N (HN=) C)), 8,45 (br s, 3H, NH3 Phe (4-H2N (HN=) C)), 9,32, 9,50 (2 s, 4H, H2N (H2N=) C); ESI-MS: m/z = 275.0 [M+H] < +> ; more ber. for C15H22N4O: 274,17.

A19. AC-DLPhe (4-CN) - OH
EMI29.1

▲ top
2.58 g (14.6 mmol) H-DLPhe (4-CN) - OH become in 50 ml DMF suspended ice bath cooling and agitation with acetic anhydride (1.66 ml, 17.5 mmol), finally neutralized with pyridine (1.17 m, 14.6 mmol), bottom and, staggered. After 1 h the solvent in the high vacuum withdrawn, the oily residue with ethyl acetate picked, with 5% KHSO4-Lösung, is acidified the aqueous phase with ethyl acetate extracted (3-mal), the combined ethyl acetate phases over Na2SO4 dried and concentrated. The title compound becomes isolated by precipitation from ethyl acetate/petroleum ether as colorless powders. Yield: 2,73 g, DC (ethyl acetate/n butane oil/glacial acetic acid/water 5: 3 : 1 : 1) Rf = 0,7; ESI-MS: m/z = 233.0 [M+H] < +> ; more ber. for C12H12N2O3: 232,08.

A20. HO2C (CH2) 2CO-DLPhe (4-H2N (HN=) C) - PipxHCl
EMI29.2

H-DLPhe (4-H2N (HN=) C) - Pipx2 HCl (0.50 g, 1.44 mmol, A18) and 0.248 ml DIEA become in 2 ml DMF presented and then bottom agitations with 0,17 g (1.73 mmol) succinic anhydride dissolved in 1 ml DMF staggered. After 16 h the Solvents in the high vacuum withdrawn, the oily residue is acidified into 40 ml waters dissolved, with 1 N HCl and the aqueous phase 10-10-mal with 15 ml Butanol extracted. The combined Butanolphasen becomes in-rotated and 2-mal with toluene treated. The title compound becomes obtained by precipitation from MeOH/ethyl acetate as nearly colorless powders. Yield: 0.43 g; DC (n Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1 : 1 : 5) Rf = 0,2; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): delta = 1.20-1.60 (to 3 br m, 6H, CH2-CH2-CH2 beep), 2.21-2.38 (br m, 4H, CH2-CH2-CO2H), 2,86, 3,05 (2 m, 2H, beta CH2 Phe (4 - NH2 (NH=) C)), 3.20-3.61 (br to m, 4H, 2xN-CH2 beep, lap with the water signal of the DMSO), 4,96 (m, 1H, alpha CH Phe (4-NH2 (NH=) C)), 7,45, 7,75 (2d, 4H, J = 8 hzs, C6H4 Phe (4-NH2 (NH=) C)), 8,35 (D, 1H, J = 8 hzs, alpha NH Phe (4-NH2 (NH=) C)), 9,12, 9,30 (2 s, 4H, H2N (H2N=) C), 12,05 (br s, 1H, CH2 CH2-CO2H); ESI-MS: m/z = 375.4 [M+H] < +> ; more ber. for C19H26N4O4:

374,19.

A21. BOC Gly DLPhe (4-CN) - OMe
EMI29.3

H-DLPhe (4-CN) - OHxHCl (1.50 g, 6.23 mmol) and BOC Gly OH (1.31 g, 7.47 mmol) as well as DIEA (1.07 ml, 6.23 mmol) are /HOBt in 50 ml chloroform presented and using EDC (1.43 g, 7.47 mmol) (1.01 g, 7.47 mmol) bottom ice bath cooling coupled. After 16 h the solvent in the vacuo withdrawn, the residue in ethyl acetate picked, becomes the ethyl acetate phase in sequence with 5% KHSO₄-Lösung, 5% NaHCO₃-Lösung, water and satisfied saline washed, over Na₂SO₄ dried and concentrated. The title compound becomes from third butyl methyl ether/petroleum ether isolated as colorless powders. Yield: 2,02 g; DC (chloroform/methanol 9: 1) R_f = 0,6; ESI-MS: m/z = 384.2 [M+Na] < +> ; more ber. for C₁₈H₂₃N₃O₅: 361,16.

A22. H-Gly-DLPhe (4-CN) - OMexHCl
EMI30.1

BOC Gly DLPhe (4-CN) - OMe (2.02 g, 5.57 mmol) are submitted of 95 per cent trifluoroacetic acid dissolved and bottom ice bath cooling of the cleavage in 50 ml. After 3 h the acidic one in the vacuo withdrawn, the residue in methanol dissolved, becomes concentrated and multiple with toluene treated staggered with 6 N HCl in Dioxan. The title compound becomes from isopropanol/third butyl methyl ether isolated as colorless powders. Yield: 1,59 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1: 1: 5) R_f = 0,2; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 3,02 (m, 1H, beta 2CH₂ Phe (4-CN)), 3,16 (m, 1H, beta 1CH₂ Phe (4-CN)), 3,52 (m, 2H, alpha CH₂ Gly), 3,63 (s, 3H, OCH₃), 4,62 (m, 1H, alpha CH Phe (4-CN)), 7,47 (D, 2H, J = 8,2 hzs, C₆H₄ Phe (4-CN)), 7,76 (D, 2H, J = 8,2 hzs, C₆H₄ Phe (4-CN)), 8,12 (br s, 3H, alpha NH₃ Gly), 9,06 (D, 1H, J = 7,9 hzs, alpha NH Phe (4-CN)); ESI-MS: m/z = 262.2 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₃H₁₅N₃O₃: 261,11.

A23. Z-Gly-DLPhe (3-BOC-NH-CH₂) - OMe
EMI30.2

H-DLPhe (3-BOC-NH-CH₂) - OMexHCl (0.70 g, 2.03 mmol, A14) become in 30 ml chloroform dissolved with DIEA (0.35 ml, 2.03 mmol) neutralized and with 0,80 g (2.63 mmol) Z-Gly-OSu staggered. After 16 h the solvent in the vacuo withdrawn, the residue in ethyl acetate picked, becomes the ethyl acetate phase in sequence with 5% KHSO₄-Lösung, 5% NaHCO₃-Lösung, water and satisfied saline washed, over Na₂SO₄ dried and concentrated. The crude product becomes by column chromatography at silica gel (80 g silica gel, Eluent: Ethyl acetate/petroleum ether 4: 1) purified. The title compound becomes isolated thereby as colorless foam. Yield: 0.90 g; DC (chloroform/methanol 9: 1) R_f = 0,8; DC (ethyl acetate/petroleum ether 4: 1) R_f = 0,6; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,38 (s, 9H, C (CH₃) 3), 2,90 (m, 1H, beta 2CH₂ Phe (3-H₂NCH₂)), 2,98 (m, 1H, beta 1CH₂ Phe (3-H₂NCH₂)), 3,54-3,69 (m, 5H, alpha CH₂ Gly, OCH₃), 4,10 (D, 2H, J = 6,0 hzs, CH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂)), 4,46 (m, 1H, alpha CH Phe (3-H₂NCH₂)), 5,02 (s, 2H, CH₂C₆H₅), 7,01-7,42 (3 m, 11H, alpha NH Gly, CH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂), C₆H₄, Phe (3-H₂NCH₂), CH₂C₆H₅), 8,29 (D, 1H, J = 7,6 hzs, alpha NH Phe (3-H₂NCH₂)); ESI MS: m/z = 500.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₈H₂₃N₃O₅: 499,23.

A24. H-Gly-DLPhe (3-BOC-NH-CH₂) - OMexHCl
EMI31.1

Z-Gly-DLPhe (3-BOC-NH-CH₂) - OMe (0.77 g, 1.53 mmol, A23) are submitted to methanol dissolved and the hydrogenolysis (10%Pd-C, p (H₂) = 1 bar) in 200 ml. After 5 h the catalyst filtered becomes, the pH value with 6 N HCl in Dioxan on 4 adjusted and concentrated. The title compound becomes from isopropanol/third butyl methyl ether isolated as colorless powders. Yield: 0.55 g; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1: 1: 5) R_f = 0,3; HPLC t_R = 7.7 min. < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,39 (s, 9H, C (CH₃) 3), 2,91 (m, 1H, beta 2CH₂ Phe (3-H₂NCH₂)), 3,03 (m, 1H, beta 1CH₂ Phe (3-H₂NCH₂)), 3,55 (m, 2H, alpha CH₂ Gly), 3,62 (s, 3H, OCH₃), 4,10 (D, 2H, J = 6,1 hzs, CH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂)), 4,53 (m, 1H, alpha CH Phe (3-H₂NCH₂)), 7,03-7,14, 7,24 (2 m, 4H, C₆H₄ Phe (3-H₂NCH₂)), 7,35 (m, 1H, CH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂)), 8,13 (br s, 3H, alpha NH₃ Gly), 8,94 (D, 1H, J = 7,7 hzs, alpha NH Phe (3-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 366.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₁₈H₂₇N₃O₅: 365,19.

A25. AC-DLPhe (4-CN) - C [Lys Lys] - DLPhe (4-CN) - AC
EMI31.2

C [Lys (NH₂) Lys (NH₂)]x2HCl (250.0 mg, 0.76 mmol, A10) dissolved in 20 ml DMF/Wasser (3: 1) become with DIEA (0.26 ml, 1.52 mmol) neutralized, 423.2 mg (1.82 mmol) AC-DLPhe (4-CN) - OH (A19) added and in presence of EDC (349.2 mg, 1.82 mmol) /HOBt (246.2 mg, 1.82 mmol) coupled. After 16 h the solvent mixture in the high vacuum withdrawn becomes, the obtained crude product at silica gel chromatography ore (18 g silica gel 60, Eluent: Chloroform/methanol 4: 1) and the title compound finally by precipitation from the system methanol/third butyl methyl ether as colorless powder isolated. Yield: 327 mg; DC (n-Butanol/glacial acetic acid/water/ethyl acetate 3: 1: 1: 5) R_f = 0,3; DC (chloroform/methanol 4: 1) R_f = 0,4; HPLC t_R = 6.3 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,21-1,40, 1,55-1,73 (2 br m, 12H, 2x beta CH₂ Lys, 2x gamma CH₂ Lys, 2x delta CH₂ Lys), 1,75 (s, 6H 2xC (O) CH₃), 2,82, 2,93-3,07 (2 m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (4-CN), 2x epsilon CH₂ Lys), 3,77 (m, 2H, 2x alpha CH₂ Lys), 4,47 (m, 2H, 2x alpha CH₂ Phe (4-CN)), 7,41 (D, 4H, J = 8,1 hzs, 2xC₆H₄ Phe (4-CN)), 7,73 (D, 4H, J = 8,1 hzs,

▲ top

2xC₆H₄ Phe (4-CN)), 7,95 (m, 2H, 2x epsilon NH Lys), 8,05 (s, 2H, 2x alpha NH Lys), 8,10 (m, 2H, 2x alpha NH Phe (4-CN)); ESI-MS: m/z = 707.6 [M+Na] < +> ; more ber. for C₃₆H₄₄N₈O₆: 684,33.

A26. MeO DLPhe (4-CN) - Gly cÄAsp AspÜ Gly DLPhe (4-CN) - OMe
EMI32.1

H-Gly-DLPhe (4-CN) - MeOxHCl (0.62 g, 2.09 mmol, A22) dissolved in 20 ml DMF became neutralized with DIEA (0.36 ml, 2.09 mmol), cÄAsp (OH) - Asp (OH) u (0.20 g, 0.87 mmol, A4) added and in presence of PyBOP (1.08 g, 2.09 mmol) coupled. After 16 h the solvent mixture in the high vacuum withdrawn becomes, the obtained crude product at silica gel chromatography ore (100 g silica gel 60, Eluent: Chloroform/methanol 4: 1) and the title compound finally by precipitation from methanol/third butyl methyl ether as colorless powder isolated. Yield: 0.43 g; DC (chloroform/methanol 4: 1) R_f = 0,6; HPLC t_R = 7.9 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 2,54, 2,71, 2.96-3.06, 3.08-3.17 (4 m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (4-CN), 2x beta CH₂ Asp), 3.52-3.78 (br m, 4H, 2x alpha CH₂ Gly), 3,59 (s, 6H, 2xOCH₃), 4,28 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 4,53 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (4-CN)), 7.37-7.45, 7.70-7.76 (2 m, 8H, 2xC₆H₄ Phe (4 - CN)), 7.95-8.03, 8.21-8.40 (2 br m, 6H, 2x alpha NH Asp, 2x alpha NH Gly, 2x alpha NH Phe (4-CN)); ESI-MS: m/z = 717.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₃₄H₃₆N₈O₁₀: 716,25.

A27. MeO DLPhe (4-CN) - Gly C [DAsp Asp] - Gly DLPhe (4-CN) - OMe
EMI32.2

H-Gly-DLPhe (4-CN) - MeOxHCl (0.62 g, 2.09 mmol, A22) dissolved in 20 ml DMF become neutralized with DIEA (0.36 ml, 2.09 mmol), C [DAsp (OH) - Asp (OH)] (0.20 g, 0.87 mmol, A7) added and in presence of EDC (0.40 g, 2.09 mmol) /HOBt (0.23 g, 1.74 mmol) coupled. After 16 h the solvent mixture in the high vacuum withdrawn, methanol added, short is abzentrifugiert sonifiziert, the colorless precipitation, in sequence with methanol, third butyl methyl ether as well as petroleum ether washed and in the vacuo dried. The title compound becomes obtained as colorless powders. Yield: 0.50 g; DC (chloroform/methanol 4: 1) R_f = 0,3; HPLC t_R = 8.6 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 2.52-2.70, 2.95-3.05, 3.09-3.17 (3 m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (4-CN), 2 beta CH₂ Asp), 3.56-3.75 (br m, 4H, 2x alpha CH₂ Gly), 3,60 (s, 6H, 2xOCH₃), 4,16 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 4,53 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (4-CN)), 7.38-7.45, 7.70-7.77 (2 m, 8H, 2xC₆H₄ Phe (4-CN)), 7,95, 8,24, 8,37 (3 m, 6H, 2x alpha NH Asp, 2x alpha NH Gly, 2x alpha NH Phe (4-CN)); ESI-MS: m/z = 717.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₃₄H₃₆N₈O₁₀: 716,25.

A28. MeO DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - Gly C [DAsp Asp] - Gly DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMe
EMI33.1

H-Gly-DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMexHCl (0.21 g, 0.52 mmol, A14) dissolved in 15 m DMF become neutralized with DIEA (0.09 mL, 0.52 mmol), C [DAsp (OH) - Asp (OH)] (0.05 g, 0.22 mmol, A7) added and in presence of EDC (0.10 g, 0.52 mmol) /HOBt (0.06 g, 0.43 mmol) coupled. After 16 h the solvent mixture in the high vacuum withdrawn becomes, the obtained crude product at silica gel chromatography ore (20 g silica gel 60, Eluent: Chloroform/methanol 4: 1) and the title compound finally by precipitation with ethyl acetate as colorless powder isolated. Yield: 0.13 g; DC (chloroform/methanol 4: 1) R_f = 0,6; HPLC t_R = 10.2 min; < 1> H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): delta = 1,38 (s, 18H, 2xC (CH₃) 3), 2.51-2.70, 2.86-3.02 (2 br m, 8H, 2x beta CH₂ Phe (3-H₂NCH₂), 2x beta CH₂ Asp), 3,57 (s, 6H, 2xOCH₃), 3.60-3.80 (br m, 4H, 2x alpha CH₂ Gly), 4,10 (m, 4H, 2xCH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂)), 4,16 (m, 2H, 2x alpha CH Asp), 4,30 (m, 2H, 2x alpha CH Phe (3-H₂NCH₂)), 7.02-7.11, 7.19-7.25 (2 m, 8H, 2xC₆H₄ Phe (3-H₂NCH₂)), 7,32 (m, 2H, 2xCH₂NHBOC Phe (3-H₂NCH₂)), 7,92, 8.17-8.82, 8,34 (3 m, 6H, 2x alpha NH Asp, 2x alpha NH Gly, 2x alpha NH Phe (3-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 925.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₄₄H₆₀N₈O₁₄: 924,42.

A29. MeO DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - Gly C [Asp Asp] - Gly DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMe
EMI33.2

H-Gly-DLPhe (3-BOC-HN-CH₂) - OMexHCl (0.125 g, 0.312 mmol, A14) dissolved in 10 ml DMF become neutralized with DIEA (0.054 ml, 0.312 mmol), C [Asp (OH) - Asp (OH)] (0.030 g, 0.130 mmol, A4) added and in presence of EDC (0.059 g, 0.312 mmol) /HOBt (0.042 g, 0.312 mmol) coupled. After 16 h the solvent mixture in the high vacuum withdrawn becomes, the obtained crude product at silica gel chromatography ore (20 g silica gel 60, Eluent: Chloroform/methanol 4: 1) and the title compound finally by precipitation from ethyl acetate/petroleum ether as colorless powder isolated. Yield: 0.103 g; DC (chloroform/methanol 4: 1) R_f = 0,7; HPLC t_R = 10.5 min; ESI-MS: m/z = 925.4 [M+H] < +> ; more ber. for C₄₄H₆₀N₈O₁₄: 924,42.

Industrial applicability

The compounds according to invention possess valuable pharmacological properties, which make them usable for commercial as inhibitors of the Tryptase. Human Tryptase is a serine protease, which represents the predominant present protein in human mast cells. Tryptase covers eight narrow used enzymes (alpha 1, alpha 2, beta 1a, beta 1b, beta 2, beta 3, mMCP-7-like-1, mMCP-7-like-2; 85 to 99% sequence identity) (see. Miller et al., J. Clin. Invest. 84 (1989) 1188-1195; Miller et al., J. Clin. Invest. 86 (1990) 864-870; Vanderslice et al., Proc. Natl. Acad. Sci., the USA 87 (1990) 3811-3815; Pallaoro et al., J. Biol. Chem. one. 274 (1999) 3355-3362). Only the beta - Tryptasen (Schwartz et al., J. Clin. Invest. 96 (1995) 2702-2710; Sakai et al., J. Clin. Invest. 97 (1996) 988-995) becomes however intracellular activated and stored in catalytic active form in Sekretgranulen. Tryptase points some particular properties compared with other known serine proteases, like for the example trypsin or chymotrypsin to (Schwartz

et al., Methods Enzymol. 244, (1994), 88-100; G. H. Caughey, "mast of cell proteases in immunology and biology". Marcel Dekker, Inc., New York, 1995). Tryptase from human tissues exhibits a not covalent linked tetramere structure, which must become stabilized by heparin or other Proteoglycane, in order to be proteolytic active. Tryptase becomes together with other Entzündungsmediatoren, like z. B. Histamine and Proteoglycanen, released, if human mast cells become activated. One suspected therefore that Tryptase plays a role with series of diseases, in particular with allergic and inflammatory diseases, to the one due to the importance of the mast cells with such diseases and on the other hand, since with series of such diseases increased Tryptase contents a found became. Thus becomes Tryptase and. A. with the subsequent diseases in context brought: Acute and chronic (in particular inflammatory and all towards induced) breath way illnesses various genesis (z. B. Bronchitis, allergic bronchitis, asthma bronchiale, COPD); Interstitial lung illnesses; Diseases, those on allergic reactions of the upper respiratory system (throat area, nose) and the adjacent regions (z. B. Nose-beside-hollow, conjunctivas) are based, as for example to allergic Konjunktivitis and allergic rhinitis; Diseases from the form circle of the arthritis (z. B. rheumatoid arthritis); Autoimmune diseases such as multiple sclerosis; furthermore Periodontitis, Anaphylaxis, interstitiale Cystitis, dermatitis, psoriasis, Sklerodermie/systemic sclerosis, inflammatory bowel diseases (disease Crohn, Inflammatory Bowel Disease) and different one. Tryptase seems to stand in particular for direct with the pathogenesis of asthma in context (Caughey, to. J. Respir. Cell mole. Biol. 16 (1997), 621-628; R. Tanaka, "The role OF tryptase in allergic inflammation" in: Protease of inhibitor, IBC LIBRARY Series, 1979, Chapter 3.3.1-3.3.23).

Other subject matter of the invention are the compounds according to invention to the application with the treatment and/or prophylaxis in particular the diseases mentioned by diseases.

Likewise the invention concerns the use of the compounds according to invention to the preparation of medicaments, which become the treatment and/or prophylaxis of the diseases mentioned used.

Further drugs are to the treatment and/or prophylaxis of the diseases mentioned, which contain or the several compounds according to invention, subject matter of the invention.

The drugs become prepared after actual known, the person skilled in the art common methods. As drugs the compounds according to invention become (= active ingredients) either as such, or preferably in combination with suitable pharmaceutical adjuvants z. B. in the form of tablets, dragees, capsules, suppositories, plasters, emulsions, suspensions, gels or solutions used, whereby the active substance content favourable-proves between 0,1 and 95% amount to.

Which adjuvants for the desired formulations of medicine are suitable, is common the person skilled in the art due to its specialized knowledge. Beside solvents, Gelbildnern, ointment bases and other active substance carriers can become for example Antioxidantien, dispersing agents, emulsifiers, preservatives, solubilizers or permeation activators used.

For the treatment of diseases of the respiratory tract the compounds according to invention become preferred also inhalationally applied. For this these become either direct as powders (preferably in mikronisierter form) or by atomising solutions or suspensions, which contain them, administered. Concerning the preparing and dosage forms for example to the embodiments in the European patent 163,965 one refers.

For the treatment of Dermatosen the made application of the compounds according to invention in particular in form of such drugs, which are suitable for a topical application. Preferably for the preparation of the drugs the compounds according to invention (= active ingredients) become with suitable pharmaceutical adjuvants mixed and processed to suitable formulations of medicine. As suitable formulations of medicine are for example propellants, emulsions, suspensions, sprays, oils, ointments, fat albums, creams, pastes, gels or solutions mentioned.

▲ top

The drugs according to invention become prepared after actual prior art methods. The dosage of the active ingredients with systemic therapy. (p. o. or i. v) lies between 0,1 and 10 mg per kilogram and day.

Biological studies

The documented pathophysiological effects of the Mastzell Tryptase become direct by the enzymatic activity of the protease effected. They become corresponding by inhibitors, which restrain the enzymatic activity of the Tryptase, reduced and/or. blocked. A suitable measure for the affinity of a reversible inhibitor to the Zielprotease is the equilibrium dissociation constant AI of the enzyme inhibitor complex. This AI value can become over the influence of the inhibitor on the Tryptase indexed cleavage of a chromogenic Peptid p Nitroanilid substrate or a fluorogenic peptid of Aminomethylcumarin substrate certain.

Methodology

The dissociation constants for the Tryptase inhibitor complexes become bottom balance conditions the corresponding general proposals of Bieth (Bieth JG, Pathophysiological interpretation OF kinetics constants OF protease of inhibitor, bulletin. Europ. Physiopath. Respectable. 16: 183-195, 1980) and the methods of summer-hope et al. (Summer-hope CP et al., A Kazal type inhibitor OF human mast cell tryptase: Insulation from the medical leech Hirudo

medicinalis, characterization, and sequence analysis, Biol. Chem. one. Hoppe Seyler 375: 685-694, 1994) certain.

Human Tryptase becomes from lung fabric pure shown or recombinant prepared; the specific activity of the protease certain by means of titration amounts to usually large 85% of the theoretical value. Constant amounts of the Tryptase are inkubiert in presence by heparin (0.1-50 μ g/ml) to the stabilization of the protease with ascending amounts of the inhibitors. After balancing between the reaction partners the remaining enzyme activity becomes certain after addition of the Peptid p Nitroanilid substrate tos Gly pro bad pNA, whose cleavage over 3 min becomes followed with 405 Nm. Alternative one can become the enzymatic residual activity also with fluorogenic substrates certain. The apparenen dissociation constants Kiapp (D. h. in the presence of substrate) subsequent become by adaptation of the enzyme speeds to the general equation for reversible inhibitors (Morrison JF, Kinetics OF the reversible inhibition OF enzymecatalysed reactions by tight binding inhibitor, Biochim. Biophys. Acta 185, 269-286, 1969) by means of not linear regression determined:

$$V_i/V_0 = 1 - \frac{E_t + I_t + K_{iapp}}{(E_t + I_t + K_{iapp})^2 - 4E_t I_t} < 2 > - \frac{1}{2} > \frac{1}{2E_t}$$

V_i and V_0 are the rates in the presence and/or. Absence of the inhibitor and E_t and I_t the concentrations of the Tryptase and the inhibitor.

According to invention the apparenen dissociation constants determined for the compounds result from the subsequent table A, in which the numbers of the compounds correspond to the numbers of the compounds in the examples.

Table A

Inhibition of the human Tryptase
EMI37.1



Europäisches
Patentamt
European Patent
Office
Office européen
des brevets

[Claims of DE19937721](#)
[Print](#)
[Copy](#)
[Contact Us](#)
[Close](#)

Result Page

Notice: This translation is produced by an automated process; it is intended only to make the technical content of the original document sufficiently clear in the target language. This service is not a replacement for professional translation services. The esp@cenet® Terms and Conditions of use are also applicable to the use of the translation tool and the results derived therefrom.

1. Compounds of the formula I

EMI38.1

where

A1 and a2 same or various are and - C (O) -, - NH, - o (oxygen), - S (sulphur), - S (O) 2-NH, - NH-S (O) 2, - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - C (S) - NH, - NH-C (S) -, - degrees (O) -, - C (O) - o or a connection mean,
A3 and A4 same or various are and - NH, - degrees (O) -, - C (O) - o, - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - S (O) 2-NH, - NH-S (O) 2 - or a connection mean,

M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI38.2

B1 a connection or a 1-4C-Alkylen means,

B2 a connection or a 1-4C-Alkylen means,

B3 and B4 same or various are and a connection, 1-4C-Alkylen or - C (R11) R12 mean,

whereby R11 and R12 are together and bottom inclusion of the carbon atom to both bound, a spiro linked 3, 4, 5 - or 6-gliedrigen satisfied hydrocarbon ring represent,

Y1 and Y2 same or various are and a group from the subsequent revue represent

EMI39.1

how

X selected is from one of the subsequent groups

EMI39.2

R2 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,

R3 hydrogen, 1-4C-Alkyl or a group from the subsequent revue represents

EMI39.3

or whereby R2 and R3 together and bottom inclusion of the nitrogen atom, to which both bound are a group from the subsequent revue represent

EMI39.4

how

R31 hydrogen, 1-4C-Alkyl or 1-4C-Alkoxy means,

R32 hydrogen, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxycarbonyl, Phenyl-1-4C-alkoxycarbonyl, carboxyl, mono or Di-1-4C-alkylaminocarbonyl and

R33 hydrogen, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl or Hydroxymethylcarbonyl mean,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl or a group from the subsequent revue represents

EMI40.1

how

R41 hydrogen or 1-4C-Alkyl, and

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl or Phenyl-1-4C-alkyl means,

R5 hydrogen, 1-4C-Alkyl or a group from the subsequent revue represents

EMI40.2

R6 hydrogen, - C (O) - OR61 or - C (O) - NHR61 means, how

R61 1-4C-Alkyl or Phenyl-1-4C-alkyl means,

and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40 connections present must be, as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded it would come, with those or the several variables a B1, a B2, a B3 or a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two Heteroatome, two carbonyl groups or two sulfonyl groups.

2. Compounds of the formula I according to claim 1, where

A1 and a2 same or various are and - C (O) -, - NH, - o (oxygen), - C (O) - NH, - NH-C (O) -, - degrees (O) -, - C (O) - o or a connection mean,

A3 and A4 same or various are and - NH, - degrees (O) -, - C (O) - o, - C (O) - NH, - NH-C (O) - or a connection mean,
M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI41.1

B1 a connection or a 1-4C-Alkylen means,
B2 a connection or a 1-4C-Alkylen means,
B3 and B4 same or various are and a connection or a 1-4C-Alkylen mean,
Y1 and Y2 same or various are and a group from the subsequent revue represent

EMI41.2

EMI42.1

how
X selected is from one of the subsequent groups

EMI42.2

R2 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
R3 hydrogen, 1-4C-Alkyl or benzyle means,
or whereby R2 and R3 together and bottom inclusion of the nitrogen atom, to which both bound are a group from the subsequent revue represent

EMI42.3

how
R33 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
R4 1-4C-Alkylcarbonyl means,
R5 hydrogen or 1-4C-Alkyl means,
and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40 connections present must be,
as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded it would come, with those or the several variables a B1, a B2, a B3 or a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two Heteroatome or two carbonyl groups.

3. Compounds of the formula I according to claim 1, where

A1 and a2 same or various are - C (O) - NH or - NH-C (O) - mean,
A3 and A4 same or various are and - C (O) - NH or a connection mean,
M a Diketopiperazinbaustein selected from the subsequent revue represents

EMI43.1

B1 1-4C-Alkylen means,
B2 1-4C-Alkylen means,
B3 and B4 same or various are and a connection or a 1-2C-Alkylen mean,
Y1 and Y2 same are and a group selected from the subsequent revue represent

EMI43.2

and where on direct path between the terminal nitrogen atoms 20 to 40 connections present must be,
as well as the salts of these compounds, whereby all are those compounds excluded, with which one or both variables a B3 and a B4 the importance of a connection to assume and it by it to the direct linkage of two carbonyl groups it would come.

4. Compounds of the formula I after one of the claims 1 to 3, characterised in that on direct path between the terminal nitrogen atoms 25 to 40 connections present to be must.

▲ top

5. Compounds of the formula I according to claim 1 with the chemical designation

(3S, 6S) - 3,6-Di (4 - 3 [1 (4-carbamimidoylbenzyl) - 2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl] - propanoylamino butyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6S) - 3,6-Di 4 (2-acetylamino-3 (4-aminomethylphenyl) - propanoylamino] - butyl-1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6R) - 3,6-Di ([2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6S) - 3,6-Di ((2 (4-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl-methyl-1,4H-2,5-dioxopiperazin;
(3S, 6R) - 3,6-Di ([2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin; and
< DP N=44> (3S, 6S) - 3,6-Di ([2 (3-aminomethylphenyl) - 1-methoxycarbonylethylcarbamoyl] - methylcarbamoyl methyl) - 1,4H-2,5-dioxopiperazin; < BR > as well as the salts of these compounds.

6. Compounds of the formula I according to claim 1 to the treatment of diseases.

7. Use of compounds of the formula I according to claim 1 to the manufacture of medicaments to the treatment of breath way illnesses.



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 199 37 721 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
C 07 K 7/02
A 61 K 38/07
C 07 K 7/06

②① Aktenzeichen: 199 37 721.9
②② Anmeldetag: 10. 8. 1999
④③ Offenlegungstag: 15. 2. 2001

DE 199 37 721 A 1

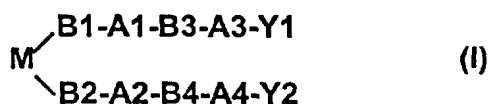
⑦① **Anmelder:**
Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der
Wissenschaften e.V., 80539 München, DE; Byk
Gulden Lomborg Chemische Fabrik GmbH, 78467
Konstanz, DE

⑦④ **Vertreter:**
Weickmann & Weickmann, 81679 München

⑦② **Erfinder:**
Schaschke, Norbert, 81373 München, DE; Moroder,
Luis, Prof. Dr., ., ZZ; Huber, Robert, Prof. Dr., 82110
Germering, DE; Bode, Wolfram, Dr., 82131 Gauting,
DE; Sommerhoff, Christian, ., ZZ

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑤④ Neue Diketopiperazine
⑤⑦ Verbindungen der Formel I



worin M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, Y1 und Y2 die in
der Beschreibung angegebenen Bedeutungen haben,
sind neue wirksame Tryptase-Inhibitoren.

DE 199 37 721 A 1

Beschreibung

Anwendung der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue Diketopiperazine, die in der pharmazeutischen Industrie zur Herstellung von Medikamenten verwendet werden.

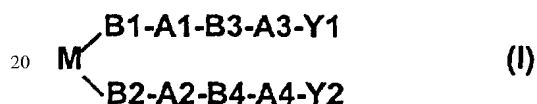
Bekannter technischer Hintergrund

In den internationalen Anmeldungen WO 95/32 945, WO 96/09 297, WO 98/04 537, WO 99/12 918 und WO 99/24 395 werden niedermolekulare Verbindungen als Tryptaseinhibitoren beschrieben.

Beschreibung der Erfindung

Es wurde nun gefunden, daß die nachfolgend näher beschriebenen Verbindungen der Formel I überraschende und besonders vorteilhafte Eigenschaften besitzen.

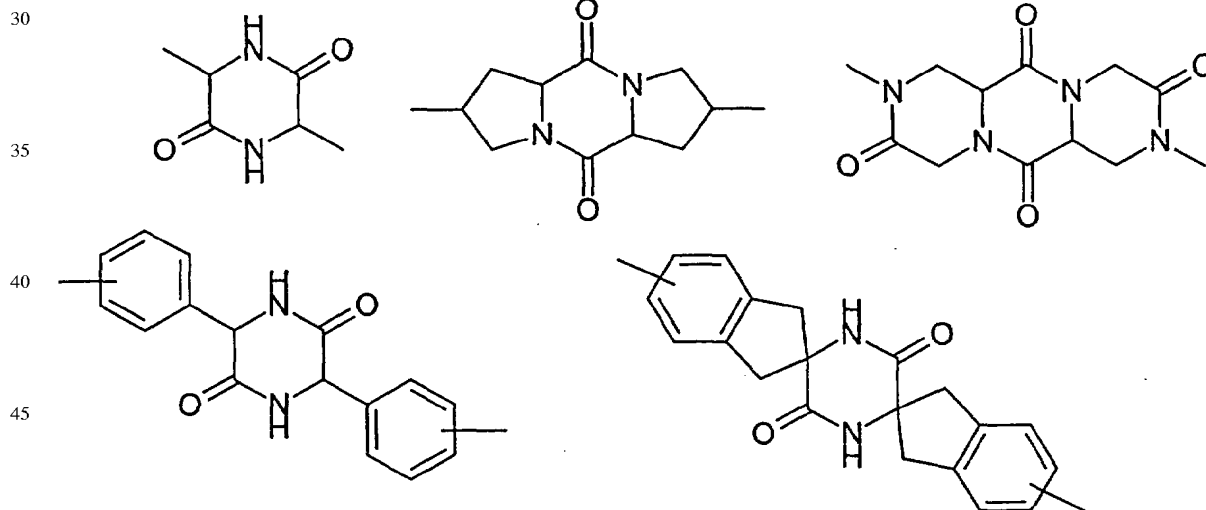
Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I



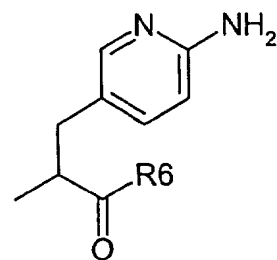
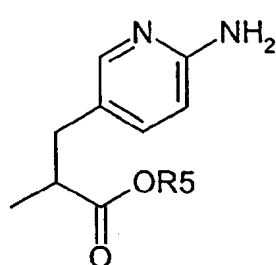
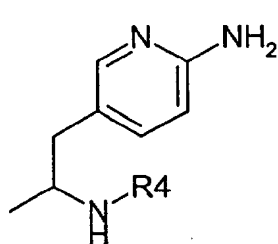
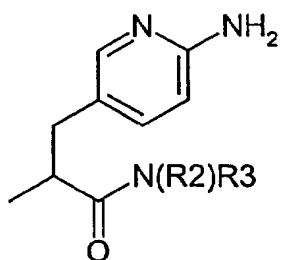
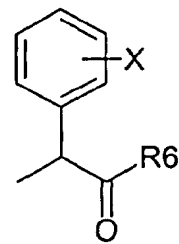
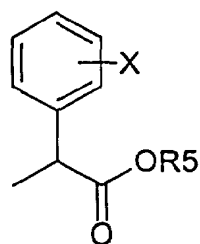
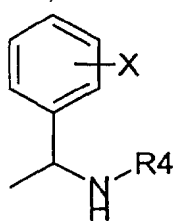
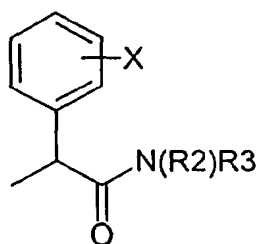
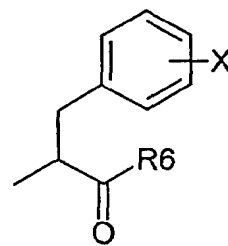
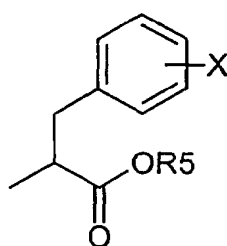
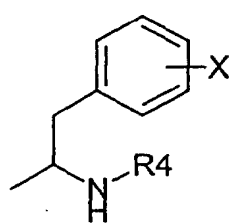
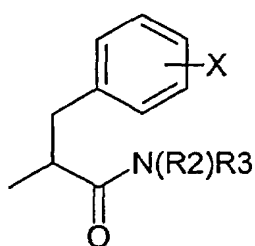
worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -S- (Schwefel), -S(O)₂-NH-, -NH-S(O)₂-,
 -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -C(S)-NH-, -NH-C(S)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,
 A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -S(O)₂-NH-, -NH-S(O)₂- oder eine Bindung bedeuten,

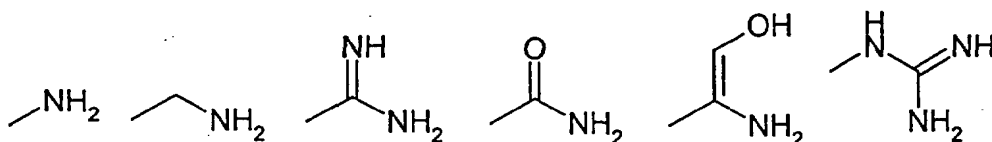
M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



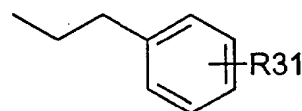
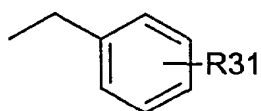
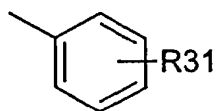
B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,
 B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,
 B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung, 1-4C-Alkylen oder -C(R11)R12- bedeuten, wobei R11 und R12 zusammen und unter Einschluß des Kohlenstoffatoms an das beide gebunden sind, einen spiro-verknüpften 3-, 4-, 5- oder 6-gliedrigen gesättigten Kohlenwasserstoffring darstellen,
 Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



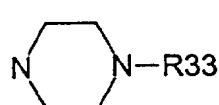
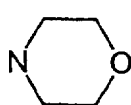
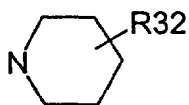
wobei
X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



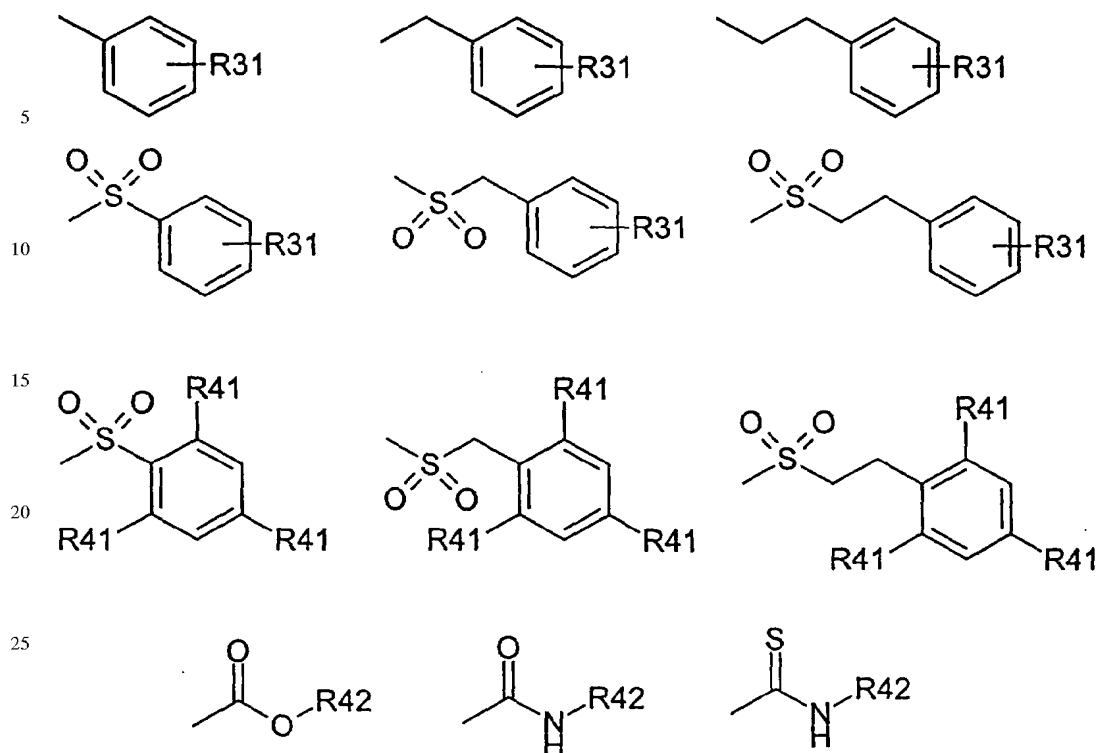
R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,
R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



wobei
R31 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder 1-4C-Alkoxy bedeutet,
R32 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxy, Carboxyl, Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonyl und
R33 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl oder Hydroxymethylcarbonyl bedeuten,
R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

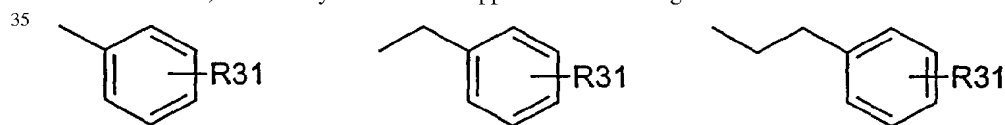


wobei

R41 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl, und

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

R5 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



R6 Wasserstoff, -C(O)-OR61 oder -C(O)-NHR61 bedeutet, wobei

R61 1-4C-Alkyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome, zweier Carbonylgruppen oder zweier Sulfonylgruppen kommen würde.

1-4C-Alkylen steht für geradkettige oder verzweigte 1-4C-Alkylenreste, beispielsweise den Methylen- ($-\text{CH}_2-$), Ethylen- ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), Trimethylen- ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), Tetramethylen- ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1,2-Dimethylethylen- [$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)-$], 1,1-Dimethylethylen- [$-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-$], 2,2-Dimethylethylen- [$-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$], Isopropyliden- [$-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$] oder den 1-Methylethylenrest [$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$].

Als spiro-verknüpfter 3-, 4-, 5- oder 6-gliedriger gesättigter Kohlenwasserstoffring sei der Cyclopropan-, der Cyclobutan-, der Cyclopentan- und der Cyclohexanring genannt.

1-4C-Alkyl steht für geradkettige oder verzweigte Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielsweise seien genannt der Butyl-, iso-Butyl-, sec.-Butyl-, tert.-Butyl-, Propyl-, Isopropyl-, Ethyl- und der Methylrest.

1-4C-Alkoxy steht für Reste, die neben dem Sauerstoffatom einen geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen enthalten. Beispielsweise seien genannt der Butoxy-, iso-Butoxy-, sec.-Butoxy-, tert.-Butoxy-, Propoxy-, Isopropoxy- und bevorzugt der Ethoxy- und Methoxyrest.

1-4C-Alkoxy-carbonyl steht für eine Carbonylgruppe, an die einer der vorstehend genannten 1-4C-Alkoxyreste gebunden ist. Beispielsweise seien der Methoxycarbonyl- [$\text{CH}_3\text{O-C(=O)-}$] und der Ethoxycarbonylrest [$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O-C(=O)-}$] genannt.

Phenyl-1-4C-alkoxy-carbonyl steht für eine der vorstehend genannten 1-4C-Alkoxyreste, an die ein Phenylring gebunden ist. Beispielsweise sei der Benzoyloxycarbonylrest genannt.

Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonylreste enthalten neben der Carbonylgruppe einen Mono- bzw. Di-1-4C-alkylaminorest. Beispielsweise genannt seien der N-Methyl-, der N,N-Dimethyl-, der N-Ethyl-, der N-Propyl-, der N,N-Diethyl- und der N-Isopropylaminocarbonylrest.

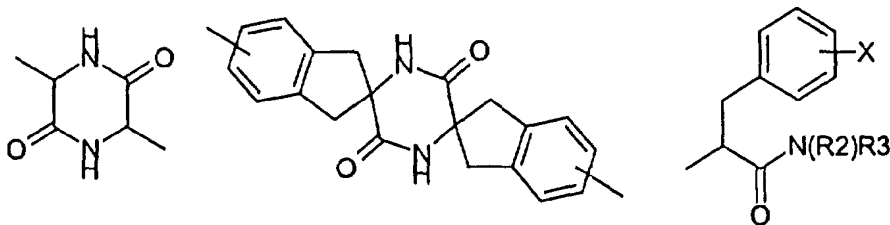
1-4C-Alkylsulfonyl steht für eine Sulfonylgruppe, an die einer der vorstehend genannten 1-4C-Alkylreste gebunden ist. Beispielsweise sei der Methylsulfonylrest (CH_3SO_2-) genannt.

1-4C-Alkylcarbonyl steht für einen Rest, der neben der Carbonylgruppe einen der vorstehend genannten 1-4C-Alkylreste enthält. Beispielsweise sei der Acetylrest genannt.

Phenyl-1-4C-alkyl steht für einen der oben genannten, durch Phenyl substituierten 1-4C-Alkylreste. Beispielsweise seien der Phenethyl- und der Benzylrest genannt.

Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl steht für einen Rest, der neben der Carbonylgruppe eine der vorstehend genannten Phenyl-1-4C-alkylreste enthält. Beispielsweise sei der Phenylacetylrest genannt.

Die Definitionen von M, Y1, Y2, X, R3, R4 und R5 enthalten chemische Formeln wie zum Beispiel

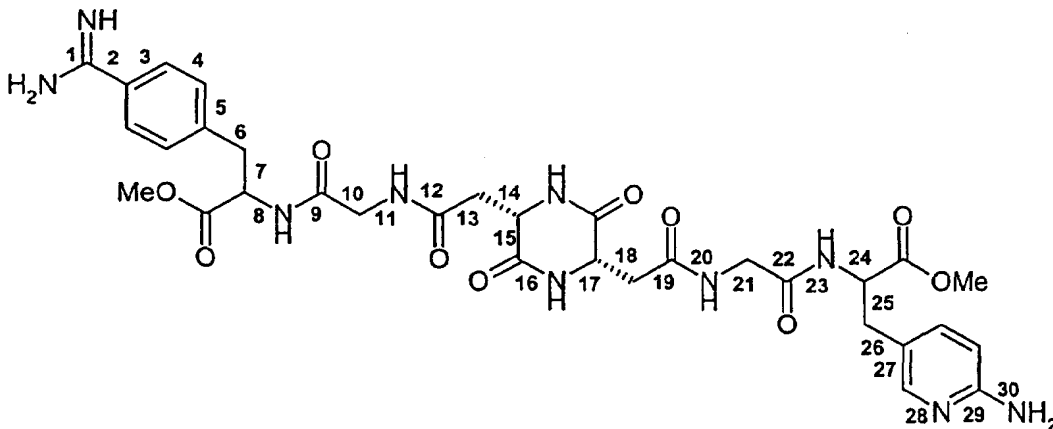


Einseitig nicht verknüpfte Bindungen bedeuten hierbei, daß der Baustein an dieser Stelle mit dem Rest des Moleküls verbunden ist. Zweiseitig nicht verknüpfte Bindungen bedeuten, daß es an diesem Baustein mehrere Stellen gibt, über die die Verbindung zum Rest des Moleküls erfolgen kann.

Mit dem Begriff terminales Stickstoffatom ist im Rahmen dieser Anmeldung jeweils ein Stickstoffatom in den mit Y1 und Y2 bezeichneten Gruppen gemeint. Das terminale Stickstoffatom ist dabei entweder eine endständige Aminogruppe des Substituenten X oder die Aminogruppe der 2-Amino-Pyrid-5-yl-gruppierung.

Erfindungsgemäß wird unter dem direkten Weg zwischen den Stickstoffatomen, die in den als Y1 oder Y2 definierten Gruppen als terminale Stickstoffatome fungieren, diejenige Anzahl von Bindungen angesehen, die durch Abzählen der Bindungen, die die kürzest mögliche Verbindungslinie zwischen den terminalen Stickstoffatomen darstellen, erhalten wird.

Folgendes Beispiel soll die Bestimmung der Anzahl der Bindungen auf dem direkten Weg zwischen zwei terminalen Stickstoffatomen verdeutlichen:



Der direkte Weg beinhaltet hier 30 Bindungen.

Als Salze kommen für Verbindungen der Formel I – je nach Substitution – alle Säureadditionssalze oder alle Salze mit Basen in Betracht. Besonders erwähnt seien die pharmakologisch verträglichen Salze der in der Galenik üblicherweise verwendeten anorganischen und organischen Säuren. Als solche eignen sich einerseits wasserlösliche und wasserunlösliche Säureadditionssalze mit Säuren wie beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Zitronensäure, D-Gluconsäure, Benzoesäure, 2-(4-Hydroxybenzoyl)-benzoesäure, Buttersäure, Sulfosalicylsäure, Maleinsäure, Laurinsäure, Äpfelsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure, Weinsäure, Embonsäure, Stearinsäure, Toluotsulfonsäure, Methansulfonsäure oder 3-Hydroxy-2-naphthoesäure, wobei die Säuren bei der Salzherstellung – je nachdem, ob es sich um eine ein- oder mehrbasige Säure handelt und je nachdem, welches Salz gewünscht wird – im äquimolaren oder einem davon abweichenden Mengenverhältnis eingesetzt werden.

Andererseits kommen auch Salze mit Basen in Betracht. Als Beispiele für Salze mit Basen seien Alkali- (Lithium-, Natrium-, Kalium-) oder Calcium-, Aluminium-, Magnesium-, Titan-, Ammonium-, Meglumin- oder Guanidiniumsalze erwähnt, wobei auch hier bei der Salzherstellung die Basen im äquimolaren oder einem davon abweichenden Mengenverhältnis eingesetzt werden.

Pharmakologisch unverträgliche Salze, die beispielsweise bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen im industriellen Maßstab als Verfahrensprodukte zunächst anfallen können, werden durch dem Fachmann bekannte Verfahren in pharmakologisch verträgliche Salze übergeführt.

Dem Fachmann ist bekannt, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen als auch ihre Salze, wenn sie zum Beispiel in kristalliner Form isoliert werden, verschiedene Mengen an Lösungsmitteln enthalten können. Die Erfindung umfaßt daher auch alle Solvate und insbesondere alle Hydrate der Verbindungen der Formel I, sowie alle Solvate und insbesondere

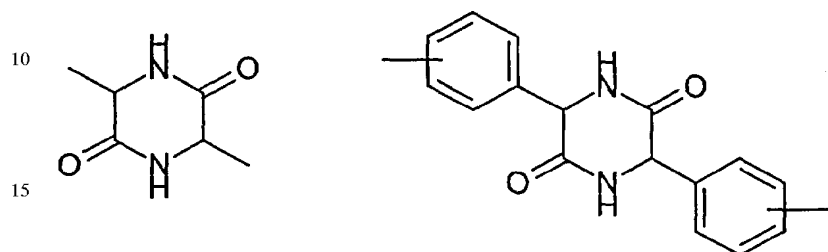
alle Hydrate der Salze der Verbindungen der Formel I.

Hervorzuhebende Verbindungen der Formel I sind solche, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

5 A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

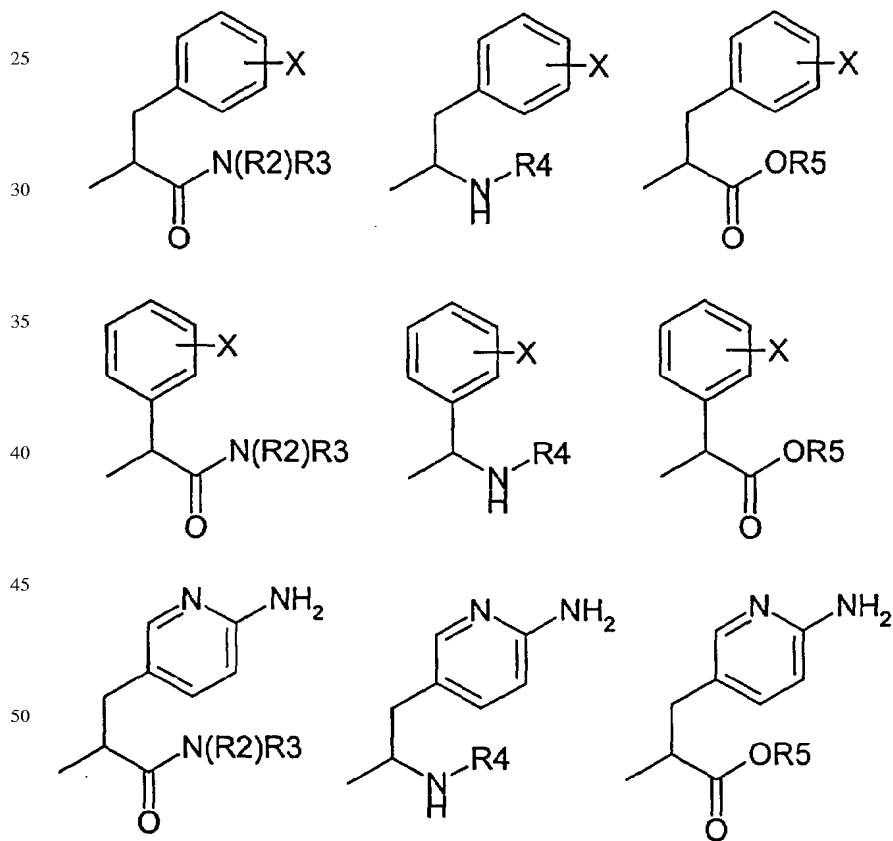


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

20 B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

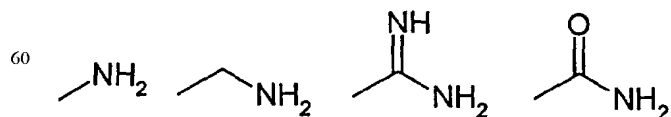
B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

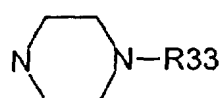
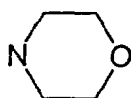
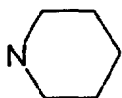
X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

65 R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder Benzyl bedeutet,

oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

R33 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

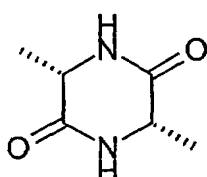
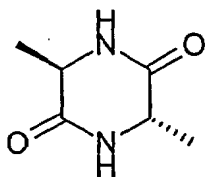
R4 1-4C-Alkylcarbonyl bedeutet,

R5 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vor-

handen sein müssen, sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome oder zweier Carbonylgruppen kommen würde.

Besonders hervorzuhebende Verbindungen der Formel I sind solche, worin A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NN-C(O)- bedeuten, A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten, M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

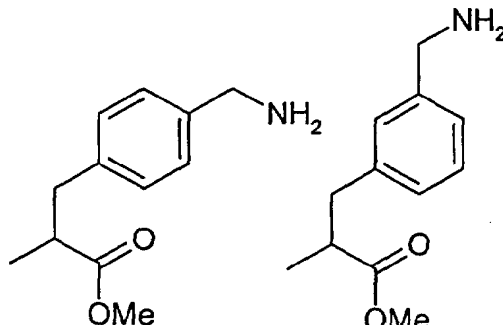
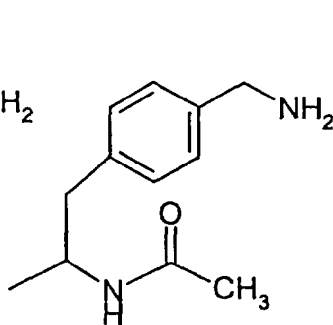
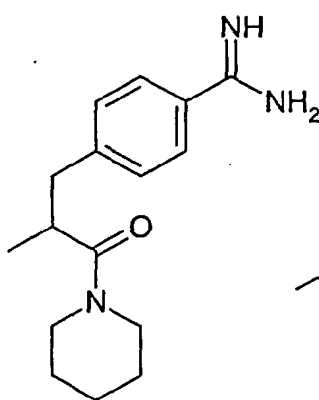


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-2C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vor-

handen sein müssen, sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

Bevorzugte Verbindungen der Formel I sind

(3S,6S)-3,6-Di-(4-{3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino}-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-{4-[2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl}-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin; und

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

sowie die Salze dieser Verbindungen.

Bei den Verbindungen der Formel I handelt es sich um chirale Verbindungen mit mehreren Chiralitätszentren. Die Erfindung umfaßt daher alle denkbaren reinen Diastereomeren und Enantiomeren als auch deren Gemische in jedem Mischungsverhältnis, einschließlich der Racemate.

Die Verbindungen der Formel I setzen sich aus einer Vielzahl divalenter (M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4) und aus zwei monovalenten Bausteinen (Y1 und Y2) zusammen. Ihre Synthese kann grundsätzlich ausgehend von jedem dieser Bausteine erfolgen. Bei weitgehend symmetrisch aufgebauten Verbindungen der Formel I bietet sich der Aufbau beginnend vom Zentralbaustein M an, während bei überwiegend unsymmetrischen Verbindungen der Formel I die Synthese ausgehend von einem der Endgruppen Y1 oder Y2 vorteilhaft sein kann.

Die Verknüpfung der Bausteine erfolgt dabei immer nach dem gleichen, dem Fachmann an sich bekannten Muster.

Dem Fachmann ist bekannt, daß die Verbindungen der Formel I entweder Baustein für Baustein aufgebaut werden können, oder daß zunächst größere aus mehreren Einzelbausteinen bestehende Fragmente erstellt werden können, die anschließend zum Gesamtmolekül zusammengesetzt werden.

Aufgrund der Bedeutungen, die die einzelnen Bausteine der Verbindungen der Formel I annehmen können, treten in den Verbindungen der Formel I Amino- [-NH-], Ether [-O-], Thioether [-S-], Keto- [-C(O)-], Ester- [-O-C(O)-, -C(O)-O-], Amid- [-C(O)-NH-, -NH-C(O)-], Sulfonamid [-SO₂-NH-, -NH-SO₂-], Carbamat- [-NH-C(O)-O-, -O-C(O)-NH-], Carbamid- [-NH-C(O)-NH-] oder Carbonatbrücken [-O-C(O)-O-] auf.

Die Art und Weise, wie solche Brücken hergestellt werden, sind dem Fachmann an sich bekannt, geeignete Methoden und Ausgangsverbindungen zu ihrer Herstellung werden beispielsweise in March, Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure, Third Edition, 1985, John Wiley & Sons beschrieben.

Ether- und Thioetherbrücken können beispielsweise nach der Methode von Williamson hergestellt werden.

Ketobrücken können beispielsweise als Bestandteil größerer Bausteine, wie z. B. dem 1,3-Dichloraceton eingeführt werden.

Sulfonylbrücken können beispielsweise durch Oxidation von Thioetherbrücken erhalten werden.

Für den Aufbau von Esterbrücken ist eine Vielzahl von Methoden bekannt. Beispielfhaft genannt sei hier die Umsetzung von Säuren mit Alkoholen, vorzugsweise unter Verwendung von H₂SO₄ oder p-Toluolsulfonsäure als Katalysator; oder unter Zugabe eines wasserentziehenden Mittels, wie zum Beispiel Molekularsieb oder einem Carbodiimid. Desweiteren kann hier die Umsetzung von Säurechloriden mit Alkoholen genannt werden.

Auch für die Darstellung von Amidbrücken gibt es eine Vielzahl bekannter Methoden. Als Beispiel sei hier die Umsetzung von Säurechloriden mit primären oder sekundären Aminen genannt. Desweiteren sei auch auf all die Methoden verwiesen, die für die Peptidchemie entwickelt wurden. Entsprechend lassen sich aus Sulfonsäurechloriden und primären oder sekundären Aminen Sulfonamidbrücken aufbauen.

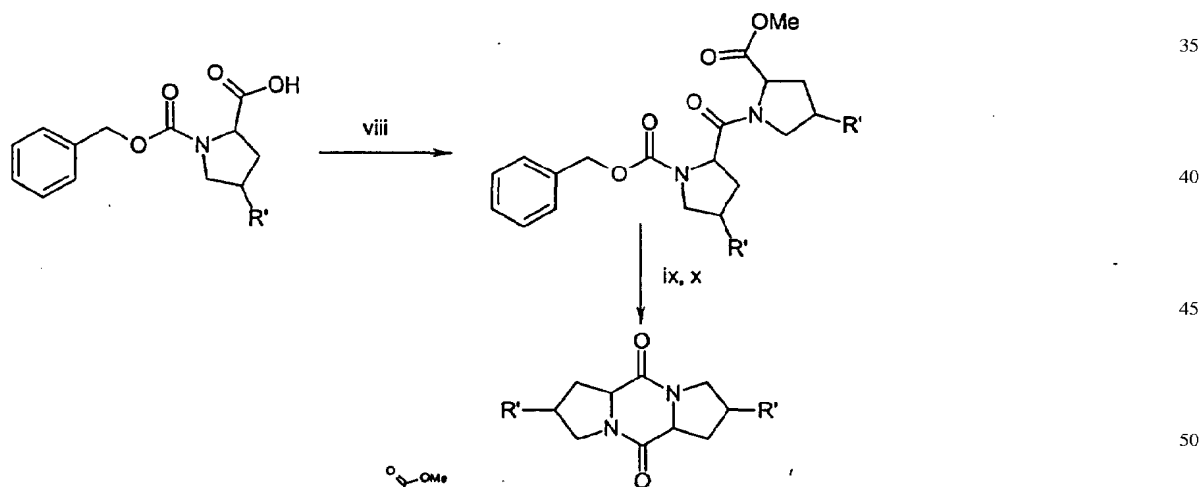
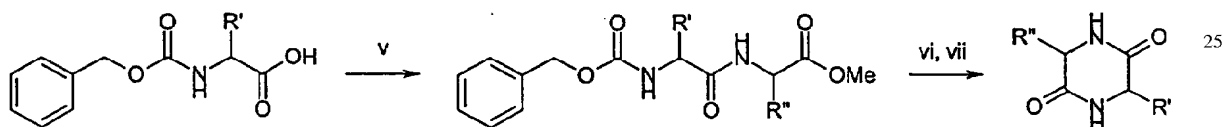
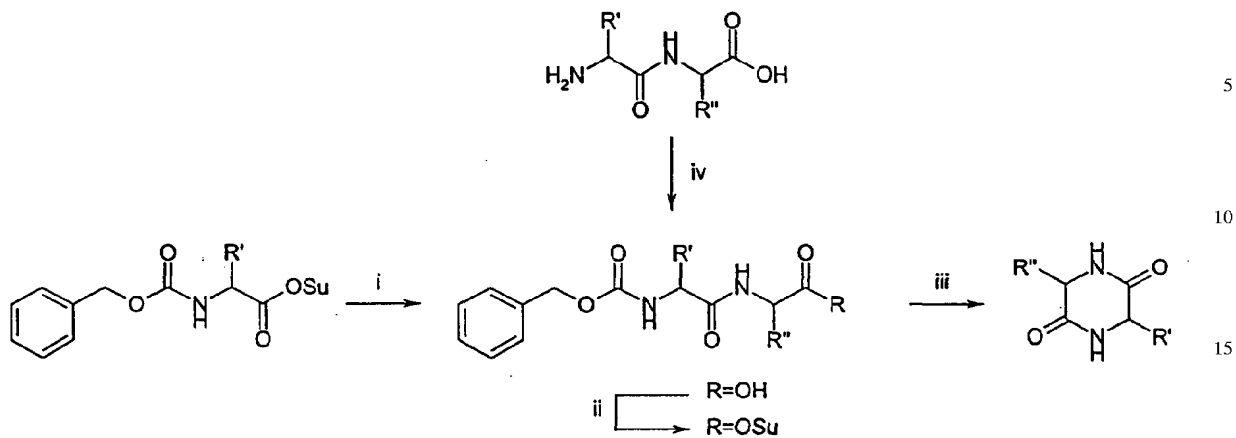
Carbamatbrücken können z. B. durch Reaktion von Chlorkohlensäureestern mit Aminen hergestellt werden. Die Chlorkohlensäureester ihrerseits können aus Alkoholen und Phosgen aufgebaut werden. Eine weitere Variante zum Aufbau von Carbamatbrücken stellt die Addition von Alkoholen an Isocyanate dar.

Ähnlich wie bei den Carbamatbrücken können ausgehend von Chlorkohlensäureestern durch Umsetzung mit Alkoholen (anstatt Aminen) Carbonatbrücken hergestellt werden.

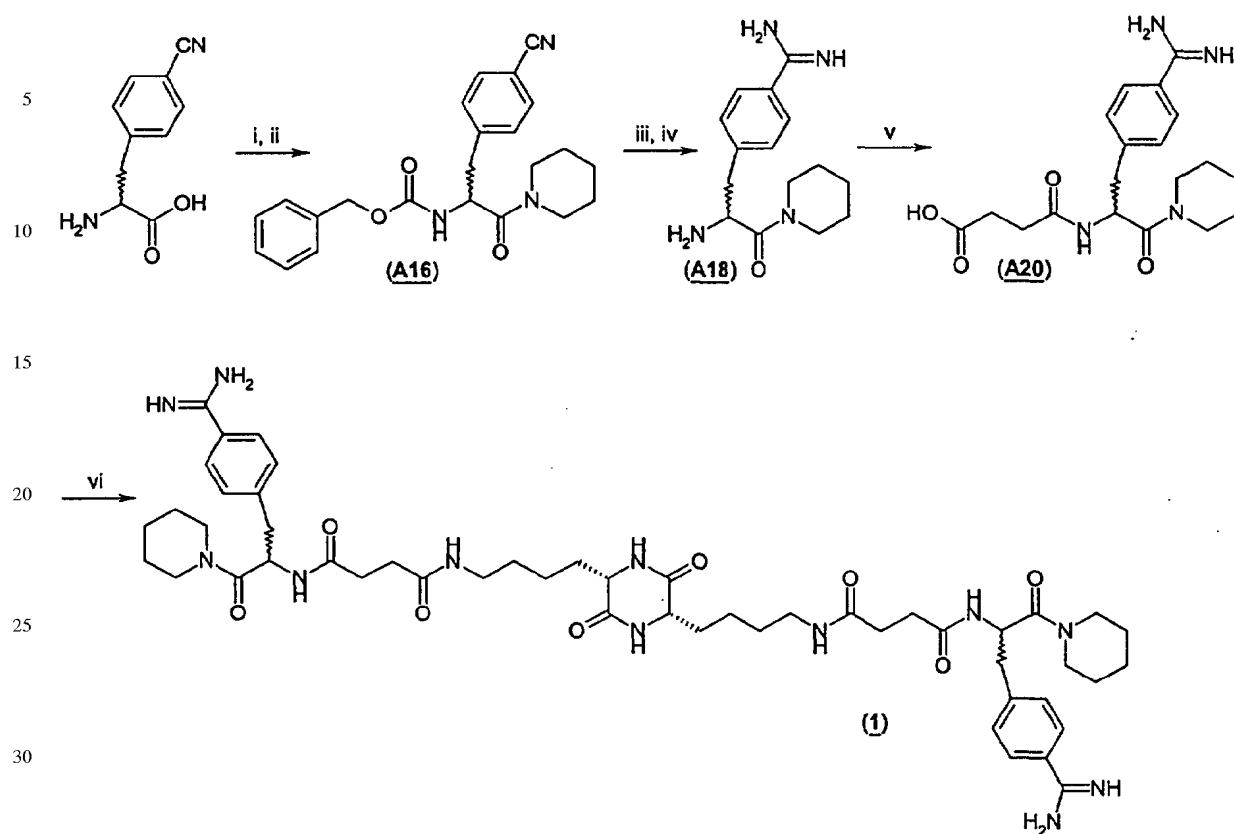
Carbamidbrücken lassen sich z. B. durch die Reaktion von Isocyanaten mit Aminen herstellen.

Die Herstellung von Verbindungen der Formel I sei exemplarisch an Hand der nachfolgenden Reaktionsschemata aufgezeigt. Weitere Verbindungen der Formel I können analog oder unter Anwendung der oben aufgeführten, dem Fachmann an sich bekannten Methoden hergestellt werden.

Reaktionsschema 1



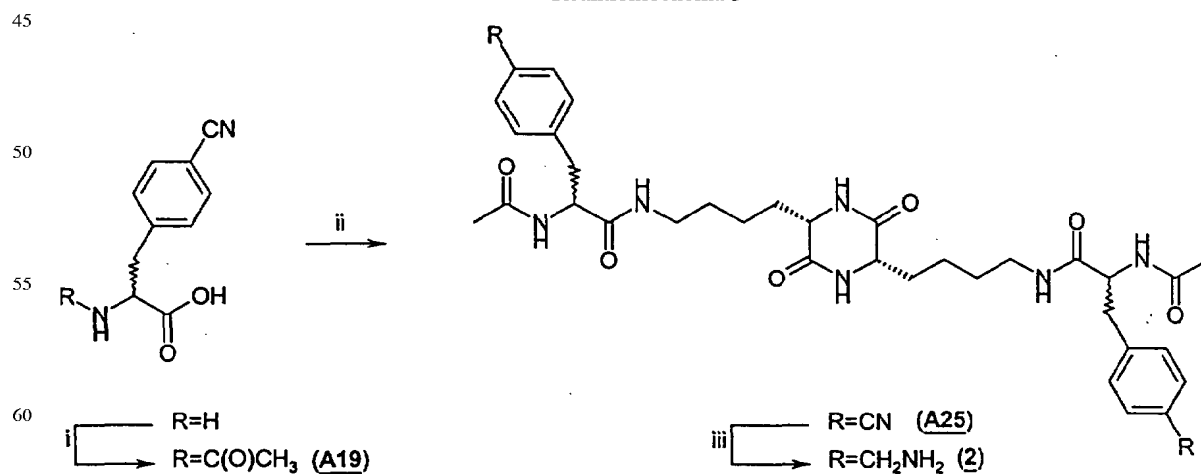
Reaktionsschema 2



Reaktionsbedingungen:

- (i) Z-OSu/1N NaOH, Dioxan;
- (ii) Piperidin/EDC/HOBt, CHCl_3 ;
- (iii) $\text{HO-NH}_2 \times \text{HCl}$ /DIEA, EtOH, Rückfluß;
- (iv) 10% Pd-C/ H_2 , HOAc/EtOH (1 : 2);
- (v) Bernsteinsäureanhydrid/DIEA, DMF;
- (vi) c[Lys(IIN₂)-Lys(NH₂)] (A10) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/ H_2O (6 : 1).

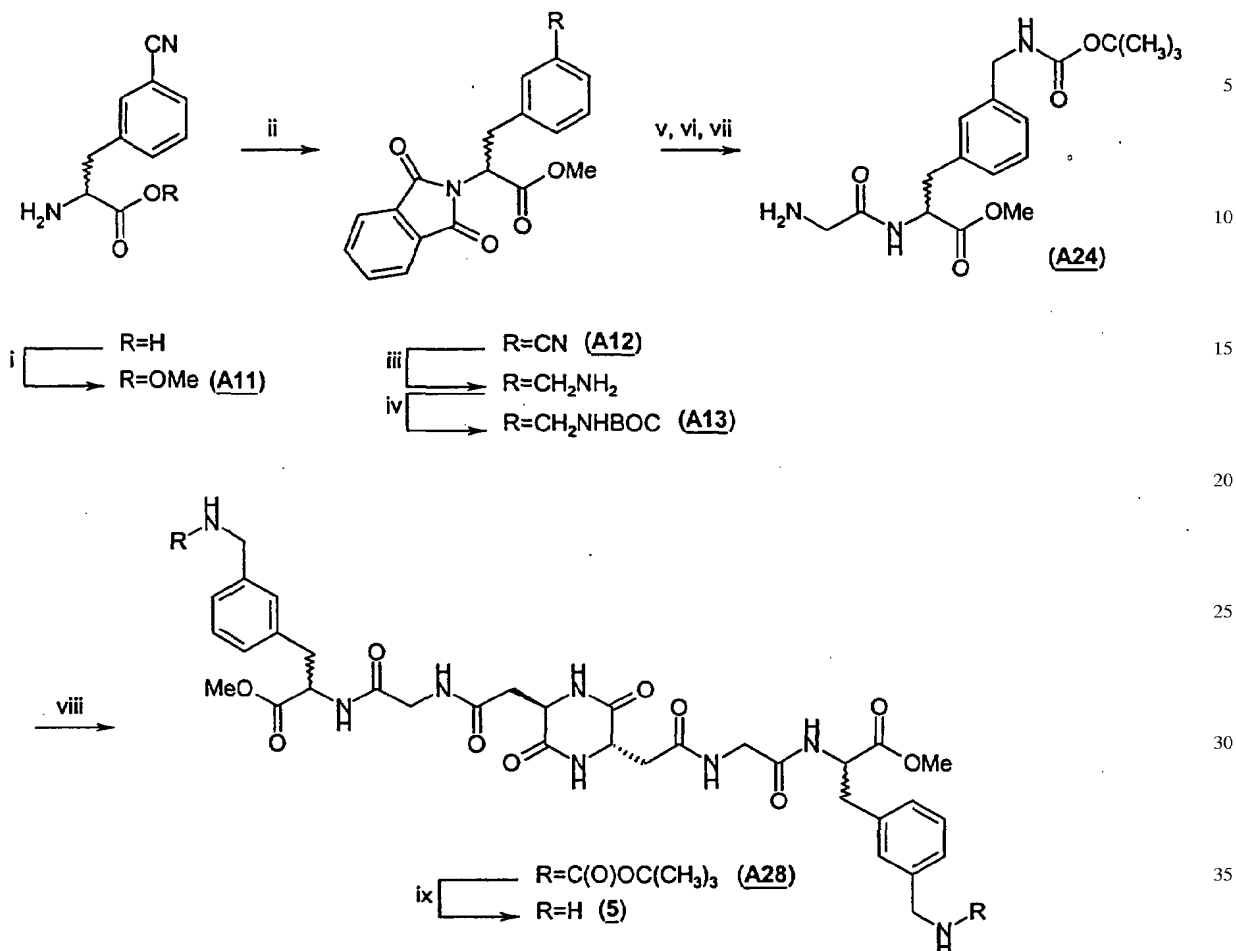
Reaktionsschema 3



Reaktionsbedingungen:

- (i) Ac_2O /Pyridin, DMF;
- (ii) c[Lys(NH₂)-Lys(NH₂)] (A10) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/ H_2O (3 : 1);
- (iii) 10% Pd-C/ H_2 , AcOH.

Reaktionsschema 4



Reaktionsbedingungen:

- (i) MeOH/SOCl₂, -5°C;
- (ii) N-Ethoxycarbonylphthalimid/Na₂CO₃, Dioxan/Wasser (1 : 1);
- (iii) 10% Pd-C/H₂, HOAc;
- (iv) (BOC)₂O/NaHCO₃, Dioxan/Wasser (1 : 1);
- (v) H₂N-NH₂×H₂O/HOAc, MeOH, 50°C;
- (vi) Z-Gly-OH/DIEA/EDC/HOBt, CHCl₃;
- (vii) 10%Pd-C/H₂, MeOH;
- (viii) c[DAsp(OH)-Asp(OH)]A7/DIEA/EDC/HOBt, DMF;
- (ix) 95%ige TFA, 0°C → RT

In Reaktionsschema 1 werden verschiedene Varianten für die Synthese des Diketopiperazinbausteins M aufgezeigt. Als Ausgangsprodukte für die Diketopiperazinbausteine eignen sich eine Vielzahl von Aminosäuren, z. B. D- und L-Asparaginsäure, D- und L-Glutaminsäure, D- und L-Lysin, D- und L-Tyrosin oder D- und L-Hydroxyprolin. Weitere geeignete Ausgangsprodukte sind Indanderivate, wie z. B. 2,5-Diaminoindan-2-carbonsäure. Der Tetrahydro-2,4a,6,8a-tetraaza-anthracen-3,7,9,10-tetraon-Baustein kann z. B. ausgehend von 3,5-Bismethylaminopiperazin-2,5-dion durch Einführung einer Schutzgruppe an den Aminogruppen (z. B. mit tert-Butyloxycarbonyl), Aktivierung der Piperazin-Stickstoffe (z. B. mit (i) Iodessigsäure; (ii) Hydroxysuccinimid/Dicyclohexylcarbodiimid) und anschließende Ringschlußreaktion hergestellt werden.

Über die Wahl der Aminosäurechiralität läßt sich die gewünschte Chiralität des Diketopiperazinbausteins einstellen; zusätzlich ist bei Einsatz von zwei unterschiedlichen Aminosäuren auch der Zugang zu unsymmetrischen Diketopiperazinbausteinen möglich.

Die Reaktionsschemata 2, 3 und 4 zeigen beispielhaft die Herstellung von Verbindungen der Formel I. Durch die geeignete Wahl der Chiralität der Ausgangsverbindungen kann jede gewünschte Stereochemie der Verbindungen der Formel I hergestellt werden.

Die Herstellung weiterer Verbindungen der Formel I ist in den nachfolgenden Beispielen beschrieben.

Dem Fachmann ist außerdem bekannt, daß es im Fall mehrerer reaktiver Zentren an einer Ausgangs- oder Zwischenverbindung notwendig sein kann, ein oder mehrere reaktive Zentren temporär durch Schutzgruppen zu blockieren, um

eine Reaktion gezielt am gewünschten Reaktionszentrum ablaufen zu lassen. Eine ausführliche Beschreibung zur Anwendung einer Vielzahl bewährter Schutzgruppen findet sich beispielsweise in T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991.

Die Isolierung und Reinigung der erfindungsgemäßen Substanzen erfolgt in an sich bekannter Weise z. B. derart, daß man das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und den erhaltenen Rückstand aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert oder einer der üblichen Reinigungsmethoden, wie beispielsweise der Säulenchromatographie an geeignetem Trägermaterial, unterwirft.

Salze erhält man durch Auflösen der freien Verbindung in einem geeigneten Lösungsmittel (z. B. einem Keton, wie Aceton, Methylethylketon oder Methylisobutylketon, einem Ether, wie Diethylether, Tetrahydrofuran oder Dioxan, einem chlorierten Kohlenwasserstoff, wie Methylenechlorid oder Chloroform, oder einem niedermolekularen aliphatischen Alkohol wie Ethanol oder Isopropanol), das die gewünschte Säure bzw. Base enthält, oder dem die gewünschte Säure bzw. Base anschließend zugegeben wird. Die Salze werden durch Filtrieren, Umfällen, Ausfällen mit einem Nichtlösungsmittel für das Anlagerungssalz oder durch Verdampfen des Lösungsmittels gewonnen. Erhaltene Salze können durch Alkalisierung bzw. durch Ansäuern in die freien Verbindungen umgewandelt werden, welche wiederum in Salze übergeführt werden können. Auf diese Weise lassen sich pharmakologisch nicht verträgliche Salze in pharmakologisch verträgliche Salze umwandeln.

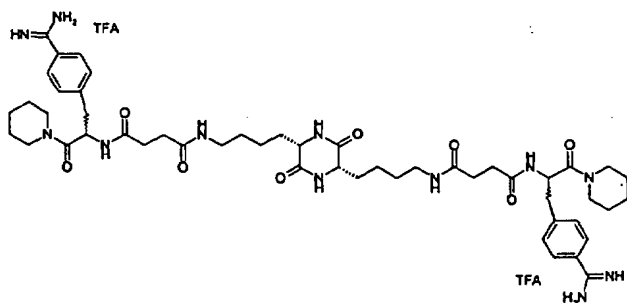
Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung der Erfindung ohne sie einzuschränken. Ebenso können weitere Verbindungen der Formel I, deren Herstellung nicht explizit beschrieben ist, in analoger oder in einer dem Fachmann an sich vertrauten Weise unter Anwendung üblicher Verfahrenstechniken hergestellt werden.

In den folgenden Beispielen steht die Abkürzung RT für Raumtemperatur, min für Minuten, h für Stunden, ber. für berechnet, HOBt für 1-Hydroxy-1H-Benzotriazol, DCC für N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, EDC für N'-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid, DIEA für Diisopropylethylamin, TFA für Trifluoressigsäure, HOSu für N-Hydroxysuccinimid, Z-OSu für N-(Benzyloxycarbonyloxy)-succinimid, RP-HPLC für Reverse Phase High Pressure Liquid Chromatography, DC für Dünnschichtchromatographie und ESI-MS für Elektrospray-Massenspektrometrie. Die beispielhaft genannten Verbindungen und ihre Salze sind bevorzugter Gegenstand der Erfindung.

Beispiele

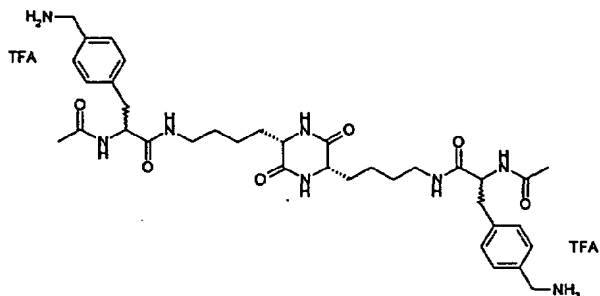
Endverbindungen

1. Pip-DL $\text{Phe}(4\text{-H}_2\text{N}(\text{HN}=\text{C})\text{-CO}(\text{CH}_2)_2\text{CO-c[Lys-Lys]}\text{-CO}(\text{CH}_2)_2\text{CO-DL}\text{Phe}(4\text{-H}_2\text{N}(\text{HN}=\text{C})\text{-Pip}\times 2\text{TFA [(3S,6S)-3,6-Di-(4-[3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxo-piperazin}\times 2\text{TFA}]$



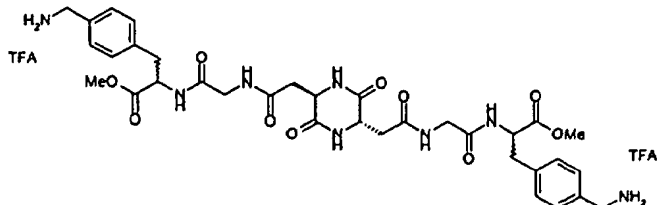
$\text{HO}_2\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{CO-DLPhe}(4\text{-H}_2\text{N}(\text{HN}=\text{C})\text{-Pip}\times\text{HCl}$ (136,7 mg, 0,332 mmol, A20), $\text{c[Lys}(\text{NH}_2)\text{-Lys}(\text{NH}_2)]\times 2$ HCl (50,0 mg, 0,152 mmol, A10) und DIEA (52 μl , 0,304 mmol) gelöst in 3,5 ml DMF/ H_2O (6 : 1) werden unter Verwendung von EDC (69,9 mg, 0,364 mmol)/HOBt (49,2 mg, 0,364 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Solvens im Hochvakuum abgezogen und das erhaltene Öl 2-mal mit Toluol behandelt. Das Rohprodukt wird durch Fällung aus MeOH/Essigester isoliert und durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 5% B, 5–10 min linearer Gradient von 5% B auf 18% B, 10^{-90} min linearer Gradient von 18% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 64,6 mg; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 20 : 20 : 9) $R_f = 0,20$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,10\text{--}1,80$ (3 br m, 24H, $2\times\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2$ Pip, $2\times\beta\text{CH}_2$ Lys, $2\times\gamma\text{CH}_2$ Lys, $2\times\delta\text{CH}_2$ Lys), 2,14–2,40 (br m, 8H, $2\times\text{CO-CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,80–3,60 (5 m, 16H, $2\times\beta\text{CH}_2$ Phe(4- $\text{NH}_2(\text{HN}=\text{C})$), $2\times\epsilon\text{CH}_2$ Lys, 4 $\times\text{N-CH}_2$ Pip, partielle Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 3,80 (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}_2$ Lys, Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4,96 (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}$ Phe(4- $\text{NH}_2(\text{HN}=\text{C})$), 7,45, 7,72 (2d, 8H, $J = 8,0$ Hz, $2\times\text{C}_6\text{H}_4$ Phe(4- $\text{NH}_2(\text{HN}=\text{C})$), 7,75 (m, 2H, $2\times\text{NH}$ Lys), 8,08 (s, 2H, $2\times\alpha\text{NH}$ Lys), 8,34 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $2\times\alpha\text{NH}$ Phe(4- $\text{NH}_2(\text{HN}=\text{C})$), 9,05, 9,23 (2 s, 8H, $2\times\text{H}_2\text{N}(\text{H}_2\text{N}=\text{C})$); ESI-MS: $m/z = 485,6$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ber. für $\text{C}_{50}\text{H}_{72}\text{N}_{12}\text{O}_8$: 968,55.

2. Ac-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-c[Lys-Lys]-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-Ac×2TFA [(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(4-amino-methylphenyl)-propanoylamino]-butyl}-1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



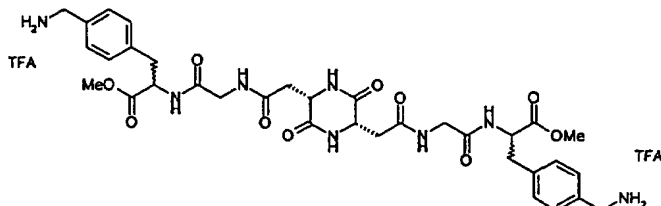
Ac-DLPhe(4-CN)-c[Lys-Lys]-DLPhe(4-CN)-Ac (100,0 mg, 0,15 mmol, A25) werden in 15 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C, p(H₂) = 1 bar). Nach 48 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, das erhaltene Öl mit Essigester versetzt, sonifiziert, der gebildete Niederschlag abzentrifugiert, mit Essigester, tert-Butylmethylether und Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 3% B, 5–90 min linearer Gradient von 3% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 40,2 mg; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12 : 9 : 4) R_f = 0,7; HPLC t_R = 3,4 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.24–1.43, 1.56–1.73 (2 br m, 12H, 2×βCH₂ Lys, 2×γCH₂ Lys, 2×δCH₂ Lys), 1.75 (s, 6H 2×C(O)CH₃), 2.73 (m, 2H, 2×β₂CH₂ Phe(4-H₂NCH₂)), 2.97 (m, 2H, 2×β₁CH₂ Phe(4-H₂NCH₂)), 3.03 (m, 4H, 2×αCH₂ Lys), 3.78 (m, 2H, 2×αCH₂ Lys), 3.98 (s, 4H, 2×CH₂NH₃ Phe(4-H₂NCH₂)), 4.43 (m, 2H, 2×αCH₂ Phe(4-H₂NCH₂)), 7.27 (d, 4H, J = 8.1 Hz, 2×C₆H₄ Phe(4-H₂NCH₂)), 7.34 (d, 4H, J = 8.1 Hz, 2×C₆H₄ Phe(4-H₂NCH₂)), 7.94 (m, 2H, 2×eNH Lys), 8.06 (br s, 6H, 2×CH₂NH₃ Phe(4-H₂NCH₂)), 8.08 (s, 2H, 2×αNH Lys); ESI-MS: m/z = 693,6 [M+H]⁺; ber. für C₃₆H₅₂N₈O₆: 692,40.

3. MeO-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-OMe×2TFA [(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(4-amino-methylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (50,0 mg, 0,07 mmol, A27) wurden in 75 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C, p(H₂) = 1 bar). Nach 24 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand mit Toluol behandelt, in Methanol gelöst, tert-Butylmethylether zugesetzt, der gebildete flockige Niederschlag abzentrifugiert, mit tert-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 5% B, 5–10 min linearer Gradient von 5% B auf 18% B, 10–90 min linearer Gradient von 18% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 27,0 mg; HPLC t_R = 6,1 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.53–2.70, 2.92, 3.05 (3 m, 8H, 2×βCH₂ Phe(4-H₂NCH₂), 2×βCH₂ Asp), 3.60 (s, 6H, 2×OCH₃), 3.68 (m, 4H, 2×αCH₂ Gly), 4.00 (m, 4H, 2×CH₂NH₃ Phe(4-H₂NCH₂)), 4.15 (m, 2H, 2×αCH Asp), 4.46 (m, 2H, 2×αCH Phe(4-H₂NCH₂)), 7.26, 7.36 (2 m, 8H, 2×C₆H₄ Phe(4-H₂NCH₂)), 7.91, 8.10–8.30, 8.39 (3 m, 12H, 2×αNH Asp, 2×αNH Gly, 2×αNH Phe(4-H₂NCH₂), 2×CH₂NH₃ Phe(4-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 725,4 [M+H]⁺; ber. für C₃₄H₄₄N₈O₁₀: 724,31.

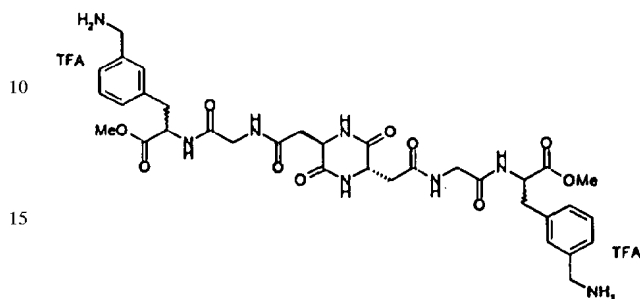
4. MeO-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4-H₂N-CH₂)-OMe×2TFA [(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(4-amino-methylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (100,0 mg, 0,14 mmol, A26) werden in 75 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C, p(H₂) = 1 bar). Nach 30 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, das erhaltene Öl in Methanol gelöst, tert-Butylmethylether zugesetzt, der gebildete Niederschlag abzentrifugiert, mit tert-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohpro-

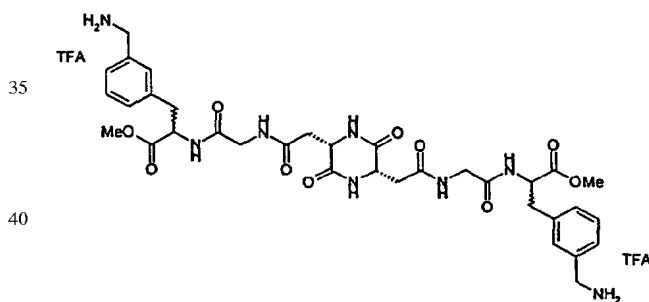
dukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: linearer Gradient von 10% B auf 60% in 50 min) und lyophilisiert. Ausbeute: 25,0 mg; HPLC t_R = 4,5 min; ESI-MS: m/z = 725,4 $[M+H]^+$; ber. für $C_{34}H_{44}N_8O_{10}$: 724,31.

5. MeO-DL $\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{N-CH}_2\text{-})\text{-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DL}\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{N-CH}_2\text{-})\text{-OMe}\times 2\text{TFA}$ [(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin $\times 2\text{TFA}$]



- MeO-DL $\text{Phe}(3\text{-BOC-HN-CH}_2\text{-})\text{-Gly-c(DAsp-Asp)-Gly-DL}\text{Phe}(3\text{-BOC-HN-CH}_2\text{-})\text{-OMe}$ (75,0 mg, 0,08 mmol, A28) werden in 10 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eiskühlung der Spaltung unterzogen. Nach 4 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt und die Titelverbindung durch Fällung aus Isopropanol/tert-Butylmethylether als farblores Pulver isoliert. Ausbeute: 74,0 mg; HPLC t_R = 5,6 min; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 2,54–2,73, 2,93, 3,04 (3 m, 8H, $2\times\beta\text{CH}_2\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)}, 2\times\beta\text{CH}_2\text{Asp}$), 3,61 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 3,70 (m, 4H, $2\times\alpha\text{CH}_2\text{Gly}$), 4,02 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)})$, 4,17 (m, 2H, $2\times\alpha\text{CHAsp}$), 4,48 (m, 2H, $2\times\alpha\text{CHPhe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)})$, 7,21–7,37 (br m, 8H, $2\times\text{C}_6\text{H}_4\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)})$, 8,14 (br s, 6H, $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)})$, 7,95, 8,27, 8,37 (3 m, 6H, $2\times\alpha\text{NHAsp}$, $2\times\alpha\text{NHGly}$, $2\times\alpha\text{NHPhe}(3\text{-H}_2\text{NCH}_2\text{)})$; ESI-MS: m/z = 725,2 $[M+H]^+$; ber. für $C_{34}H_{44}N_8O_{10}$: 724,31.

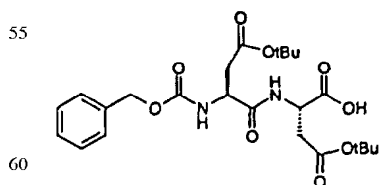
6. MeO-DL $\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{N-CH}_2\text{-})\text{-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DL}\text{Phe}(3\text{-H}_2\text{N-CH}_2\text{-})\text{-OMe}\times 2\text{TFA}$ [(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin $\times 2\text{TFA}$]



- MeO-DL $\text{Phe}(3\text{-BOC-HN-CH}_2\text{-})\text{-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DL}\text{Phe}(3\text{-BOC-HN-CH}_2\text{-})\text{-OMe}$ (75,0 mg, 0,08 mmol, A29) werden in 10 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eiskühlung der Spaltung unterzogen. Nach 2 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt und die Titelverbindung durch Fällung aus Isopropanol/tert-Butylmethylether als farblores Pulver isoliert. Ausbeute: 65,0 mg; HPLC t_R = 5,7 min; ESI-MS: m/z = 725,2 $[M+H]^+$; ber. für $C_{34}H_{44}N_8O_{10}$: 724,31.

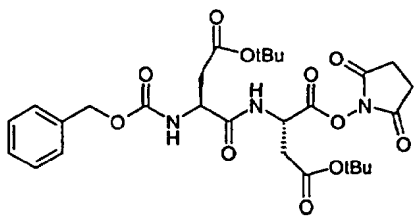
Ausgangsverbindungen

A1. Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH



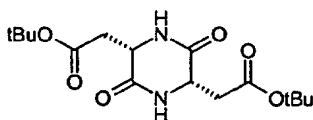
- 5,81 g (16,1 mmol) H-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH werden in 100 ml Dioxan/Wasser 1 : 1 vorgelegt, mit 2,70 g (32,2 mmol) NaHCO_3 neutralisiert und die klare Lösung unter Rühren mit 4,02 g (177 mmol) Z-OSu versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum fast vollständig abgezogen, die Wasserphase mit KHSO_4 angesäuert, mit Essigester extrahiert, die Essigesterphase mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene farblose Öl wird mit tert-Butylmethylether/Petrolether versetzt und kurz sonifiziert, wobei die Titelverbindung als farblores Pulver gewonnen wird. Ausbeute: 7,38 g; HPLC t_R = 10,8 min; ESI-MS: m/z = 495,4 $[M+H]^+$; ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_9$: 494,22.

A2. Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OSu



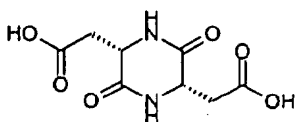
Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH (3,00 g, 6,06 mmol, Ausgangsverbindung A1) und HOSu (0,70 g, 6,06 mmol) werden in 50 ml Acetonitril gelöst und schließlich unter Eisbadkühlung und Rühren mit DCC (1,25 g, 6,06 mmol) versetzt. Nach 16 h wird der gebildete Harnstoff abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, wobei der Hydroxysuccinimidester als farbloser Schaum anfällt. Ausbeute: 3,62 g; HPLC t_R = 11,6 min; ESI-MS: m/z = 592,4 $[M+H]^+$; ber. für $C_{28}H_{37}N_3O_{11}$: 591,24.

A3. c[Asp(OtBu)-Asp(OtBu)]



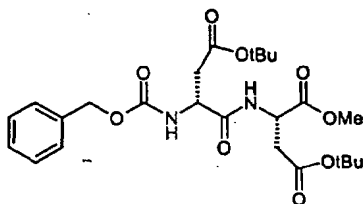
Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OSu (3,62 g, 6,12 mmol, A2) werden in 500 ml Acetonitril gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C, $p(H_2)$ = 1 bar) unterzogen, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag (Diketopiperazin) bildet. Nach 5 h wird soviel Chloroform zugesetzt, bis sich der Niederschlag vollständig gelöst hat, der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der erhaltene Rückstand wird in Chloroform gelöst, die Chloroformphase mit 5%iger $KHSO_4$ -Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen schließlich über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Pulver wird aus siedendem Methanol umkristallisiert, wobei die Titelverbindung in Form farbloser Nadeln erhalten wird. Ausbeute: 1,38 g; DC (Chloroform/Methanol 9 : 1) R_f = 0,6, DC (Essigester) R_f = 0,3, HPLC t_R = 8,9 min; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 1,39 (s, 18H, $2 \times C(CH_3)_3$), 2,62 (m, 4H, $2 \times \beta CH_2$ Asp), 4,24 (m, 2H, $2 \times \alpha CH$ Asp), 8,09 (s, 2H, $2 \times \alpha NH$ Asp); ESI-MS: m/z = 343,2 $[M+H]^+$; ber. für $C_{16}H_{26}N_2O_6$: 342,17.

A4. c[Asp(OH)-Asp(OH)]



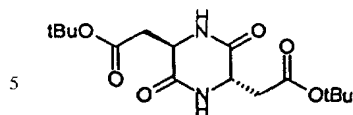
c[Asp(OtBu)-Asp(OtBu)] (1,00 g, 2,92 mmol, A3) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen. Nach 5 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt, das erhaltene farblose Pulver mit tert-Butylmethylether aufgeschlämmt, abgefrittet, mehrfach mit tert-Butylmethylether schließlich mit Petrolether gewaschen und bei 40°C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 0,69 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) R_f = 0,3; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 2,65 (m, 4H, $2 \times \beta CH_2$ Asp), 4,24 (m, 2H, $2 \times \alpha CH$ Asp), 8,06 (s, 2H, $2 \times \alpha NH$ Asp), 12,30 (br s, 2H, $2 \times COOH$); ESI-MS: m/z = 231,2 $[M+H]^+$; ber. für $C_8H_{10}N_2O_6$: 230,05.

A5. Z-DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)-OMe



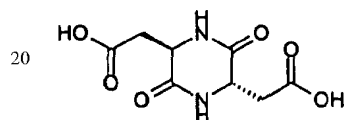
Z-DAsp(OtBu)-OH \times H $_2$ O (5,00 g, 19,97 mmol) und H-Asp(OtBu)-OMe \times H $_3$ C-C $_6$ H $_4$ -SO $_3$ H (8,24 g, 21,96 mmol) sowie DIEA (3,78 mL, 21,96 mmol) werden in 200 ml Chloroform vorgelegt und unter Verwendung von EDC (4,21 g, 21,96 mmol)/HOBt (2,96 g, 21,96 mmol) unter Eisbadkühlung gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger $KHSO_4$ -Lösung, 5%iger $NaHCO_3$ -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Die Titelverbindung wird aus tert-Butylmethylether/Petrolether in Form farbloser Kristalle isoliert. Ausbeute: 6,79 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45 : 45 : 10) R_f = 0,7; HPLC t_R = 12,2 min; ESI-MS: m/z = 509,4 $[M+H]^+$; ber. für $C_{25}H_{36}N_2O_9$: 508,24.

A6. c[DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)]



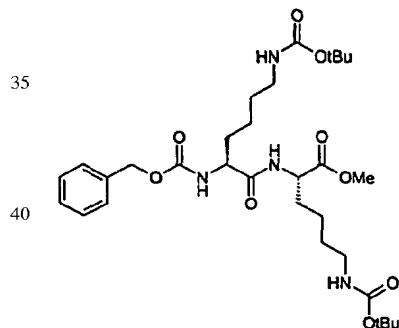
Z-DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)-OMe (6,00 g, 11,79 mmol, A5) werden in 500 ml Methanol gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C, $p(H_2) = 1$ bar) unterzogen. Nach 7 h wird der Katalysator abfiltriert und die erhaltene methanolische Lösung unter Rückfluß am Sieden gehalten. Nach 3 d wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in wenig Chloroform gelöst, durch einen Millipore-Filter kolloidal gelöster Katalysator abgetrennt, erneut einrotiert und schließlich der Rückstand aus siedendem Methanol umkristallisiert. Die Titelverbindung wird dabei als farbloses, feinkristallines Material erhalten. Ausbeute: 3,23 g; DC (Essigester) $R_f = 0,5$; HPLC $t_R = 8,3$ min; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,38$ (s, 18H, $2 \times C(CH_3)_3$), 2,56 (m, 2H, $2 \times \beta_2CH_2$ Asp), 2,76 (m, 2H, $2 \times \beta_1CH_2$ Asp), 4,08 (m, 2H, $2 \times \alpha CH$ Asp), 8,09 (s, 2H, $2 \times \alpha NH$ Asp); ESI-MS: $m/z = 343,2$ $[M+H]^+$; ber. für $C_{16}H_{26}N_2O_6$: 342,17.

A7. c[DAsp(OH)-Asp(OH)]



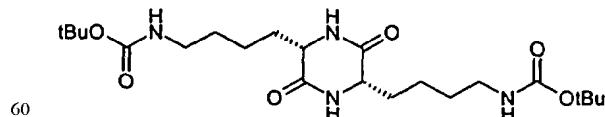
c[DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)] (2,00 g, 5,84 mmol, A6) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eiskühlung der Spaltung unterzogen, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser, kristalliner Niederschlag bildet. Nach 5 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt, das erhaltene farblose Pulver mit tert-Butylmethylether aufgeschlämmt, abgefritet, mehrfach mit tert-Butylmethylether und schließlich mit Petrolether gewaschen und bei 40°C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 1,35 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) $R_f = 0,4$; ESI-MS: $m/z = 231,2$ $[M+H]^+$; ber. für $C_8H_{10}N_2O_6$: 230,05.

A8. Z-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OMe



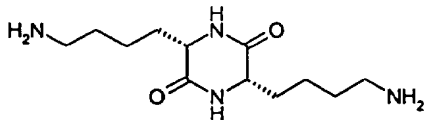
H-Lys(BOC)-OMe \times HCl (9,84 g, 31,9 mmol) werden in 130 ml DMF gelöst, mit NMM (3,51 mL, 31,9 mmol) neutralisiert und unter Rühren mit Z-Lys(BOC)-OSu (15,25 g, 31,9 mmol) versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Öl in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger $KHSO_4$ -Lösung, 5%iger $NaHCO_3$ -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingengt. Das Dipeptid fällt dabei als farbloses Pulver an. Ausbeute: 16,0 g; HPLC $t_R = 25,8$ min; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,26$ –1,36 (m, 26H, $2 \times \gamma CH_2$ Lys, $2 \times \delta CH_2$ Lys, $2 \times C(CH_3)_3$), 1,51–1,69 (m, 4H, $2 \times \beta CH_2$ Lys), 2,89 (m, 4H, $2 \times \epsilon CH_2$ Lys), 3,61 (s, 3H, OCH₃), 4,01, 4,20 (2 m, 2H, $2 \times \alpha CH$ Lys), 5,02 (s, 2H, CH₂-C₆H₅), 6,70 (br s, 2H, $2 \times \epsilon NH$ Lys), 7,26–7,36 (m, 6H, CH₂-C₆H₅, αNH Lys), 8,09 (d, 1H, J = 7,4 Hz, αNH Lys).

A9. c[Lys(BOC)-Lys(BOC)]



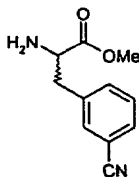
Z-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OMe (15,4 g, 24,7 mmol, A8) werden in 165 ml MeOH gelöst, mit Eisessig (1,41 mL, 24,7 mmol) versetzt und der Hydrogenolyse (10%Pd-C, $p(H_2) = 1$ bar) unterzogen. Nach beendeter Umsetzung wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen und das erhaltene Öl aus MeOH/Diethylether umgefällt. Das erhaltene Material wird ohne weitere Reinigung in einem Gemisch aus EtOH/MeOH/Aceton gelöst und für 16 h auf 55°C erhitzt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das erhaltene farblose Pulver mit Diethylether digeriert und schließlich im Vakuum bei 60°C getrocknet. Ausbeute: 10,0 g; HPLC $t_R = 9,4$ min; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,37$ (m, 26H, $2 \times \gamma CH_2$ Lys, $2 \times \delta CH_2$ Lys, $2 \times C(CH_3)_3$), 1,57–1,72 (m, 4H, $2 \times \beta CH_2$ Lys), 2,89 (m, 4H, $2 \times \epsilon CH_2$ Lys), 3,78 (m, 2H,

2× α CH Lys), 6.70 (m, 2H, 2× ϵ NH Lys), 8.09 (s, 2H, 2× α NH Lys); ESI-MS: m/z = 457,4 [M+H]⁺; ber. für C₂₂H₄₀N₄O₆: 456,29.

A10. c[Lys(NH₂)-Lys(NH₂)]×2HCl

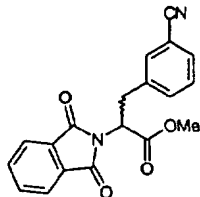
c[Lys(BOC)-Lys(BOC)] (10,0 g, 21,9 mmol, A9) werden in 70 ml HCl in Dioxan (1,7 N) suspendiert. Nach 15 h wird das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abgezogen, der erhaltene feste Rückstand mit Diethylether digeriert und schließlich bei 60°C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 7.15 g; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12 : 9 : 4) R_f = 0,25; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.25–1.86 (3 m, 12H, 2× β CH₂ Lys, 2× γ CH₂ Lys, 2× δ CH₂ Lys), 2.74 (m, 4H, 2× ϵ CH₂ Lys), 3.83 (m, 2H, 2× α CH Lys), 8.07 (br s, 6H, 2× ϵ NH₃⁺ Lys), 8.09 (s, 2H, 2× α NH Lys); ESI-MS: m/z = 257,2 [M+H]⁺; ber. für C₁₂H₂₄N₄O₂: 256,18.

A11. H-DLPhe(3-CN)-OMe×HCl

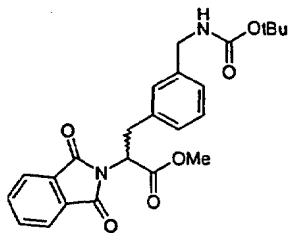


Zu 24 ml gekühltem Methanol (Isopropanol-Trockeneisbad, ca. -15°C) werden unter Rühren langsam 6,4 ml (87,2 mmol) Thionylchlorid zugetropft und schließlich 15,0 g (78,9 mmol) H-DLPhe(3-CN)-OH eingetragen, so daß die Temperatur nicht über -5°C steigt. Anschließend wird noch mit Methanol verdünnt und das Reaktionsgemisch für 2 h auf 40°C erwärmt und noch 16 h bei RT stehengelassen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgezogen und der farblose Rückstand zweimal aus Methanol/tert-Butylmethylether umgefällt. Der Methylester wird dabei in Form farbloser Kristalle gewonnen. Ausbeute: 16,0 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) R_f = 0,4; ESI-MS: m/z = 205,2 [M+H]⁺; ber. für C₁₁H₁₂N₂O₂ : 204,08.

A12. Pht-DLPhe(3-CN)-OMe

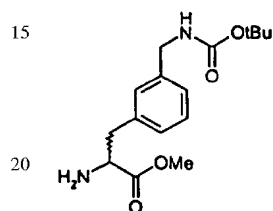


H-DLPhe(3-CN)-OMe×HCl (15,0 g, 62,3 mmol, A11) und 6,6 g (62,3 mmol) Na₂CO₃ werden in 300 ml Dioxan/Wasser 1 : 1 vorgelegt und zur Lösung unter Rühren 15,7 g (71,6 mmol) N-Ethoxycarbonylphthalimid zugesetzt. Nach 1 h werden nochmals 6,8 g (31,1 mmol) N-Ethoxycarbonylphthalimid zugesetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit 5%iger KHSO₄-Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der ölige Rückstand wird aus tert-Butylmethylether/Petrolether umgefällt, wobei die Titelverbindung als farbloses, feinkristallines Material anfällt. Ausbeute: 17,8 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45 : 45 : 10) R_f = 0,8; HPLC t_R = 11,1 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.33 (m, 1H, β ₂CH₂ Phe(3-CN)), 3.57 (m, 1H, β ₁CH₂ Phe(3-CN)), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 5.34 (m, 1H, α CH Phe(3-CN)), 7.39, 7.50, 7.61, 7.70 (4 m, 4H, C₆H₄ Phe(3-CN)), 7.86 (s, 4H, Pht); ESI-MS: m/z = 335,2 [M+H]⁺; ber. für C₁₉H₁₄N₂O₄: 334,09.

A13. Pht-DLPhe(3-BOC-NH-CH₂)-OMe

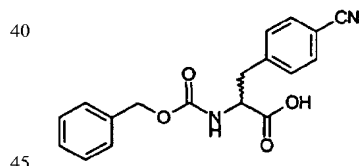
Pht-DLPhe(3-CN)-OMe (1,0 g, 3,0 mmol, A12) werden in 80 ml Eisessig gelöst und der Reduktion unterzogen (100 mg 10%Pd-C, p(H₂) = 1 bar). Nach 24 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das erhaltene Öl 3-mal

mit Toluol behandelt. Die so erhaltene Aminomethylverbindung wird ohne weiter Reinigung in 50 ml Dioxan gelöst, 0,8 g (4,5 mmol) (BOC)₂O zugesetzt und schließlich unter Rühren langsam eine Lösung von 0,25 g (3,0 mmol) NaHCO₃ in 50 ml Wasser zugetropft. Daraufhin wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger NaHCO₃-Lösung, 5%iger KHSO₄-Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch Chromatographie an Kieselgel gereinigt (20 g Kieselgel 60, Eluent: Essigester/Petrolether 1 : 2). Die Titelverbindung wird dabei als farbloser Schaum isoliert. Ausbeute: 0,75 g; DC (Essigester/Petrolether 1 : 2) R_f = 0,4; HPLC t_R = 12,1 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.35 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.30 (m, 1H, β₂CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.47 (m, 1H, β₁CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (d, 2H, J = 6.1 Hz, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 5.22 (m, 1H, αCH Phe(3-H₂NCH₂)), 6.96–7.16 (2 m, 4H, C₆H₄ Phe(3-H₂NCH₂)), 7.21 (m, 1H, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 7.84 (s, 4H, Pht); ESI-MS: m/z = 439,2 [M+H]⁺; ber. für C₂₄H₂₆N₂O₆ : 438,17.

A14. H-DLPhe(3-BOC-NH-CH₂)-OMe×HCl

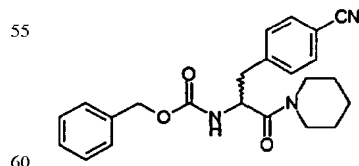
In 50 ml Methanol werden 1,46 ml (25,5 mmol) Eisessig, sowie 1,24 ml (25,5 mmol) Hydrazinhydrat vorgelegt, Pht-DLPhe(3-BOC-NH-CH₂)-OMe (3,72 g, 8,49 mmol, A13) unter Rühren zugesetzt und die Reaktionslösung auf 50°C erwärmt. Nach 8 h werden nochmal 3 Äquivalente (25,5 mmol) Hydraziniumacetat zugesetzt und das Reaktionsgemisch weiterhin auf 50°C gehalten. Nach 16 h wird das Reaktionsgemisch im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeeengt, das ausgefallenen Phthalhydrazid abzentrifugiert, die Methanolphase eingeeengt, das erhaltene Öl in Wasser gelöst und der erneut gebildete Niederschlag abzentrifugiert. Durch Zusatz von NaHCO₃ wird der pH-Wert der Wasserphase auf ca. 10 eingestellt, mit Chloroform (5-mal 100 ml) extrahiert, die vereinigten Chloroformphasen über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Öl wird in Methanol gelöst, der pH-Wert mit 6N HCl in Dioxan auf ca. 3 eingestellt und eingeeengt. Die Titelverbindung wird dann durch Umfällen aus Isopropanol/tert-Butylmethylether als farbloses Pulver gewonnen. Ausbeute: 1,90 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) R_f = 0,4; HPLC t_R = 7,5 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.39 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.05 (m, 1H, β₂CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.17 (m, 1H, β₁CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 4.11 (d, 2H, J = 5.9 Hz, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 4.23 (m, 1H, αCH Phe(3-H₂NCH₂)), 7.04–7.31 (3 m, 4H, C₆H₄ Phe(3-H₂NCH₂)), 7.35 (m, 1H, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 8.61 (br s, 3H, αNH₃ Phe(3-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 309,4 [M+H]⁺; ber. für C₁₈H₂₄N₂O₄ : 308,17.

A15. Z-DLPhe(4-CN)-OH

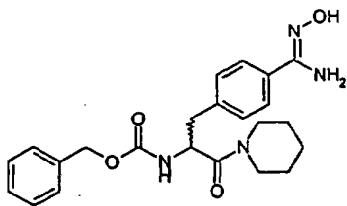


2,00 g (11,3 mmol) H-DLPhe(4-CN)-OH werden in 20 ml Dioxan suspendiert, mit 11,3 ml 1N Natronlauge neutralisiert und schließlich unter Rühren mit Z-OSu (3,39 g, 13,6 mmol) versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum bis auf ein kleines Volumen abgezogen, mit 5%iger KHSO₄-Lösung angesäuert, mit Essigester extrahiert, die Essigesterphase mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Die geschützte Aminosäure wird schließlich durch Fällung aus Essigester/Petrolether in Form farbloser Kristalle isoliert. Ausbeute: 3,26 g; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) R_f = 0,3; ESI-MS: m/z = 325,2 [M+H]⁺; ber. für C₁₈H₁₆N₂O₄ : 324,11.

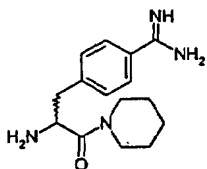
A16. Z-DLPhe(4-CN)-Pip



Z-DLPhe(4-CN)-OH (3,00 g, 10,81 mmol, A15) und 1,15 ml (11,60 mmol) Piperidin werden in 100 ml CHCl₃ gelöst und unter Verwendung von EDC (2,22 g, 11,60 mmol)/HOBt (1,46 g, 10,81 mmol) im Eisbad gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der ölige Rückstand mit Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit 5%iger KHSO₄-Lösung, 5%iger NaHCO₃-Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und schließlich über Na₂SO₄ getrocknet. Die Titelverbindung wird in Form eines farblosen Pulvers durch zweimaliges Umfällen aus Essigester/Petrolether isoliert. Ausbeute: 2,41 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Acetonitril 10 : 25 : 10) R_f = 0,6; ESI-MS: m/z = 392,0 [M+H]⁺; ber. für C₂₃H₂₅N₃O₃ : 391,18.

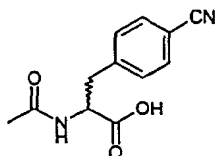
A17. Z-DLPhe(4-H₂N(HON=)C)-Pip

Z-DLPhe(4-CN)-Pip (1,00 g, 2,55 mmol, A16), Hydroxylamin-hydrochlorid (0,27 g, 3,82 mmol) und DIEA (0,66 mL, 3,82 mmol) werden in 20 ml Ethanol suspendiert und im Ölbad unter Rückfluß erhitzt, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag bildet. Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch im Eisbad gekühlt, der Niederschlag abgefrittet, wenig mit kaltem Ethanol und schließlich mit Diisopropylether und Petrolether gewaschen, wobei das Hydroxyamidin als farbloses Pulver erhalten wird. Ausbeute: 0,90 g; DC (Essigester/n-Butanol/Eisessig/Wasser 5 : 3 : 1 : 1) $R_f = 0,75$; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.20-1.60$ (3 br m, 6H, CH₂-CH₂CH₂ Pip), 2.76-2.95 (2 m, 2H, β CH₂ Phe(4-H₂N(HON=)C)), 3.30-3.50 (2 br m, 4M 2 \times N-CH₂ Pip), 4.66 (m, 1H, α CH Phe(4-H₂N(HON=)C)), 4.96 (m, 2H, CH₂-C₆H₅), 5.72 (s, 2H, NH₂), 7.20-7.37, 7.55-7.63 (2 m, 10H, α NH Phe(4-H₂N(HON=)C), C₆H₄ Phe(4-H₂N(HON=)C), CH₂-C₆H₅), 9.55 (s, 1H, N-OH); ESI-MS: m/z = 425,2 [M+H]⁺ ber. für C₂₃H₂₈N₄O₄: 424,21.

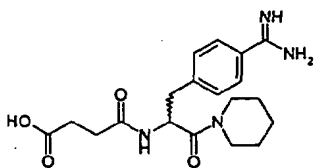
A18. H-DLPhe(4-H₂N(HN=)C)-Pip \times 2 HCl

Z-DLPhe(4-H₂N(HON=)C)-Pip (0,70 g, 1,65 mmol, A17) werden in 60 ml HOAc/EtOH (1 : 2) suspendiert und in Gegenwart von 100 mg 10% Pd-C der bei RT der Hydrogenolyse unterzogen (p(H₂) = 1 bar), wobei nach ca. 30 min das Material vollständig in Lösung geht. Nach 16 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand 3-mal mit Toluol behandelt. Das erhaltene Material wird dann zweimal in wenig MeOH gelöst, mit 1 ml 6 N HCl in Dioxan versetzt und eingengt. Das bis-Hydrochlorid wird durch Fällung aus MeOH/Dioxan als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,52 g; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12 : 9 : 4) $R_f = 0,35$; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.05, 1.30-1.60$ (2 br m, 6H, CH₂-CH₂CH₂ Pip), 2.97-3.54 (5 m, 6H, β CH₂ Phe(4-H₂N(HN=)C), 2 \times N-CH₂ Pip, partielle Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4.70 (m, 1H, α CH Phe(4-H₂N(HN=)C)), 7.48, 7.88 (2 d, 4H, J = 8.0 Hz, C₆H₄ Phe(4-H₂N(HN=)C)), 8.45 (br s, 3H, NH₃ Phe(4-H₂N(HN=)C)), 9.32, 9.50 (2 s, 4H, H₂N(H₂N=)C); ESI-MS: m/z = 275,0 [M+H]⁺; ber. für C₁₅H₂₂N₄O: 274,17.

A19. Ac-DLPhe(4-CN)-OII



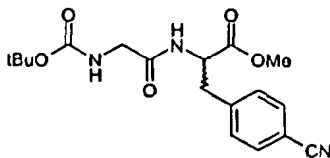
2,58 g (14,6 mmol) H-DLPhe(4-CN)-OH werden in 50 ml DMF suspendiert, mit Pyridin (1,17 m, 14,6 mmol) neutralisiert und schließlich unter Eisbadkühlung und Rühren mit Essigsäureanhydrid (1,66 ml, 17,5 mmol) versetzt. Nach 1 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, der ölige Rückstand mit Essigester aufgenommen, mit 5%iger KHSO₄-Lösung angesäuert, die wässrige Phase mit Essigester extrahiert (3-mal), die vereinigten Essigesterphasen über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Die Titelverbindung wird durch Fällung aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 2.73 g, DC (Essigester/n-Butanol/Eisessig/Wasser 5 : 3 : 1 : 1) $R_f = 0,7$; ESI-MS: m/z = 233,0 [M+H]⁺; ber. für C₁₂H₁₂N₂O₃: 232,08.

A20. HO₂C(CH₂)₂CO-DLPhe(4-H₂N(HN=)C)-Pip \times HCl

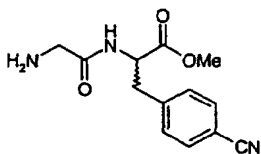
H-DLPhe(4-H₂N(HN=)C)-Pip \times 2 HCl (0,50 g, 1,44 mmol, A18) und 0,248 ml DIEA werden in 2 ml DMF vorgelegt und dann unter Rühren mit 0,17 g (1,73 mmol) Bernsteinsäureanhydrid gelöst in 1 ml DMF versetzt. Nach 16 h wird das Solvens im Hochvakuum abgezogen, der ölige Rückstand in 40 ml Wasser gelöst, mit 1 N HCl angesäuert und die wäss-

rige Phase 10-mal mit 15 ml Butanol extrahiert. Die vereinigten Butanolphasen werden einrotiert und 2-mal mit Toluol behandelt. Die Titelverbindung wird durch Fällung aus MeOH/Essigester als fast farbloses Pulver erhalten. Ausbeute: 0,43 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) $R_f = 0,2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1.20\text{--}1.60$ (3 br m, 6H, $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2$ Pip), 2.21–2.38 (br m, 4H, $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CO}_2\text{H}$), 2.86, 3.05 (2 m, 2H, βCH_2 Phe(4-NH $_2$ (NH=C))), 3.20–3.61 (br m, 4H, 2 \times N-CH $_2$ Pip, Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4.96 (m, 1H, αCH Phe(4-NH $_2$ (NH=C))), 7.45, 7.75 (2d, 4H, $J = 8$ Hz, C_6H_4 Phe(4-NH $_2$ (NH=C))), 8.35 (d, 1H, $J = 8$ Hz, αNH Phe(4-NH $_2$ (NH=C))), 9.12, 9.30 (2 s, 4H, $\text{H}_2\text{N}(\text{H}_2\text{N}=\text{C})$), 12.05 (br s, 1H, $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CO}_2\text{H}$); ESI-MS: $m/z = 375,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$: 374,19.

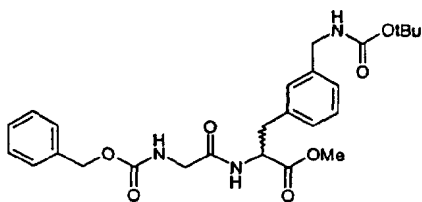
A21. BOC-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe



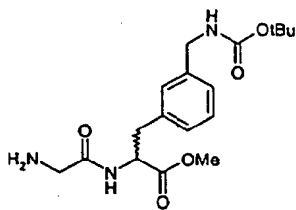
H-DLPhe(4-CN)-OH \times HCl (1,50 g, 6,23 mmol) und BOC-Gly-OH (1,31 g, 7,47 mmol) sowie DIEA (1,07 ml, 6,23 mmol) werden in 50 ml Chloroform vorgelegt und unter Verwendung von EDC (1,43 g, 7,47 mmol)/HOBT (1,01 g, 7,47 mmol) unter Eisbadkühlung gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger KHSO_4 -Lösung, 5%iger NaHCO_3 -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Die Titelverbindung wird aus tert-Butylmethylether/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 2,02 g; DC (Chloroform/Methanol 9 : 1) $R_f = 0,6$; ESI-MS: $m/z = 384,2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$: 361,16.

A22. H-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe \times HCl

BOC-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (2,02 g, 5,57 mmol) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen. Nach 3 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Methanol gelöst mit 6 N HCl in Dioxan versetzt, eingeeengt und mehrfach mit Toluol behandelt. Die Titelverbindung wird aus Isopropanol/tert-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 1,59 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) $R_f = 0,2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 3.02$ (m, 1H, $\beta_2\text{CH}_2$ Phe(4-CN)), 3.16 (m, 1H, $\beta_1\text{CH}_2$ Phe(4-CN)), 3.52 (m, 2H, αCH_2 Gly), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 4.62 (m, 1H, αCH Phe(4-CN)), 7.47 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, C_6H_4 Phe(4-CN)), 7.76 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, C_6H_4 Phe(4-CN)), 8.12 (br s, 3H, αNH_3 Gly), 9.06 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, αNH Phe(4-CN)); ESI-MS: $m/z = 262,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$: 261,11.

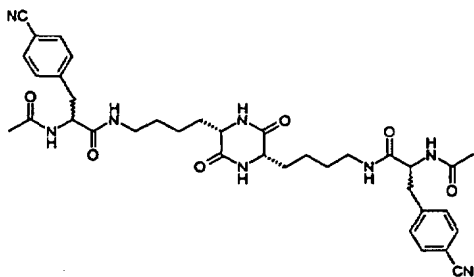
A23. Z-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH $_2$)-OMe

H-DLPhe(3-BOC-NH-CH $_2$)-OMe \times HCl (0,70 g, 2,03 mmol, A14) werden in 30 ml Chloroform gelöst mit DIEA (0,35 ml, 2,03 mmol) neutralisiert und mit 0,80 g (2,63 mmol) Z-Gly-OSu versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger KHSO_4 -Lösung, 5%iger NaHCO_3 -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (80 g Kieselgel, Eluent: Essigester/Petrolether 4 : 1) gereinigt. Die Titelverbindung wird dabei als farbloser Schaum isoliert. Ausbeute: 0,90 g; DC (Chloroform/Methanol 9 : 1) $R_f = 0,8$; DC (Essigester/Petrolether 4 : 1) $R_f = 0,6$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1.38$ (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.90 (m, 1H, $\beta_2\text{CH}_2$ Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$)), 2.98 (m, 1H, $\beta_1\text{CH}_2$ Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$)), 3.54–3.69 (m, 5H, αCH_2 Gly, OCH_3), 4.10 (d, 2H, $J = 6.0$ Hz, CH_2NHBOC Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$)), 4.46 (m, 1H, αCH Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$)), 5.02 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7.01–7.42 (3 m, 11H, αNH Gly, CH_2NHBOC Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$), C_6H_4 , Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$), $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 8.29 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, αNH Phe(3-H $_2\text{NCH}_2$)); ESI-MS: $m/z = 500,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$: 499,23.

A24. H-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH₂)-OMe×HCl

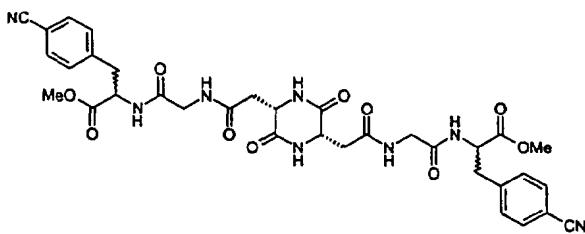
Z-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH₂)-OMe (0,77 g, 1,53 mmol, A23) werden in 200 ml Methanol gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C, p(H₂) = 1 bar) unterzogen. Nach 5 h wird der Katalysator abfiltriert, der pH-Wert mit 6 N HCl in Di-oxan auf 4 eingestellt und eingengt. Die Titelverbindung wird aus Isopropanol/tert-Butylmethylether als farbloses Pul-
ver isoliert. Ausbeute: 0,55 g; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) R_f = 0,3; HPLC t_R = 7,7 min. ¹H-
NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.39 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.91 (m, 1H, β₂CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.03 (m, 1H, β₁CH₂ Phe(3-H₂NCH₂)), 3.55 (m, 2H, αCH₂ Gly), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 4.10 (d, 2H, J = 6.1 Hz, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 4.53 (m, 1H, αCH Phe(3-H₂NCH₂)), 7.03–7.14, 7.24 (2 m, 4H, C₆H₄ Phe(3-H₂NCH₂)), 7.35 (m, 1H, CH₂NHBOC Phe(3-H₂NCH₂)), 8.13 (br s, 3H, aNH₃ Gly), 8.94 (d, 1H, J = 7.7 Hz, αNH Phe(3-H₂NCH₂)); ESI-MS: m/z = 366,4 [M+H]⁺; ber. für C₁₈H₂₇N₃O₅: 365,19.

A25. Ac-DLPhe(4-CN)-c[Lys-Lys]-DLPh(4-CN)-Ac



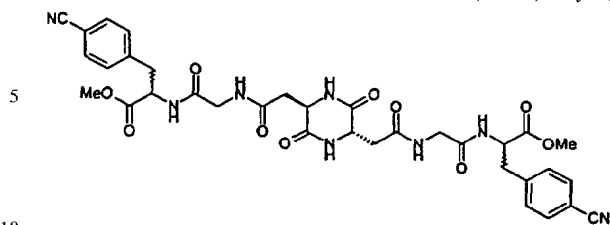
c[Lys(NH₂)Lys(NH₂)]×2HCl (250,0 mg, 0,76 mmol, A10) gelöst in 20 ml DMF/Wasser (3 : 1) werden mit DIEA (0,26 ml, 1,52 mmol) neutralisiert, 423,2 mg (1,82 mmol) Ac-DLPhe(4-CN)-OH (A19) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (349,2 mg, 1,82 mmol)/HOBt (246,2 mg, 1,82 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (18 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4 : 1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus dem System Methanol/tert-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 327 mg; DC (n-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3 : 1 : 1 : 5) R_f = 0,3; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) R_f = 0,4; HPLC t_R = 6,3 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.21–1.40, 1.55–1.73 (2 br m, 12H, 2×βCH₂ Lys, 2×γCH₂ Lys, 2×δCH₂ Lys), 1.75 (s, 6H 2×C(O)CH₃), 2.82, 2.93–3.07 (2 m, 8H, 2×βCH₂ Phe(4-CN), 2×αCH₂ Lys), 3.77 (m, 2H, 2×αCH₂ Lys), 4.47 (m, 2H, 2×αCH₂ Phe(4-CN)), 7.41 (d, 4H, J = 8.1 Hz, 2×C₆H₄ Phe(4-CN)), 7.73 (d, 4H, J = 8.1 Hz, 2×C₆H₄ Phe(4-CN)), 7.95 (m, 2H, 2×NH Lys), 8.05 (s, 2H, 2×NH Lys), 8.10 (m, 2H, 2×NH Phe(4-CN)); ESI-MS: m/z = 707,6 [M+Na]⁺; ber. für C₃₆H₄₄N₈O₆: 684,33.

A26. MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe

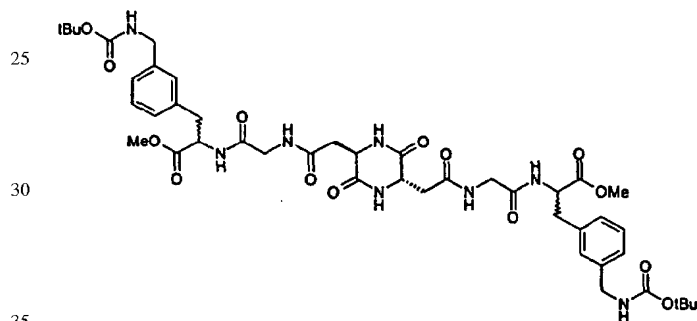


H-Gly-DLPhe(4-CN)-MeOHCl (0,62 g, 2,09 mmol, A22) gelöst in 20 ml DMF wurden mit DIEA (0,36 ml, 2,09 mmol) neutralisiert, c[Asp(OH)-Asp(OH)] (0,20 g, 0,87 mmol, A4) zugesetzt und in Gegenwart von PyBOP (1,08 g, 2,09 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (100 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4 : 1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus Methanol/tert-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,43 g; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) R_f = 0,6; HPLC t_R = 7,9 min; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.54, 2.71, 2.96–3.06, 3.08–3.17 (4 m, 8H, 2×βCH₂ Phe(4-CN), 2×βCH₂ Asp), 3.52–3.78 (br m, 4H, 2×αCH₂ Gly), 3.59 (s, 6H, 2×OCH₃), 4.28 (m, 2H, 2×αCH Asp), 4.53 (m, 2H, 2×αCH Phe(4-CN)), 7.37–7.45, 7.70–7.76 (2 m, 8H, 2×C₆H₄ Phe(4-CN)), 7.95–8.03, 8.21–8.40 (2 br m, 6H, 2×αNH Asp, 2×αNH Gly, 2×αNH Phe(4-CN)); ESI-MS: m/z = 717,4 [M+H]⁺; ber. für C₃₄H₃₆N₈O₁₀: 716,25.

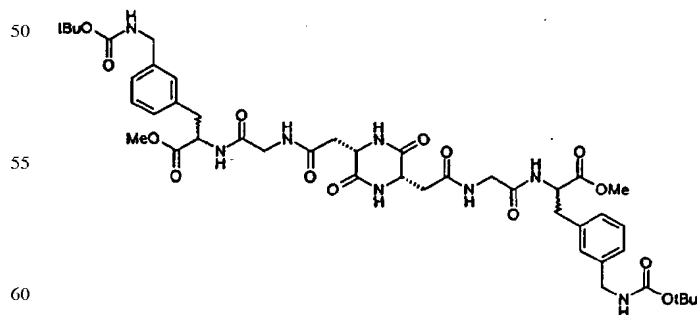
A27. MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe



H-Gly-DLPhe(4-CN)-MeOxHCl (0,62 g, 2,09 mmol, A22) gelöst in 20 ml DMF werden mit DIEA (0,36 ml, 2,09 mmol) neutralisiert, c[DAsp(OH)-Asp(OH)] (0,20 g, 0,87 mmol, A7) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,40 g, 2,09 mmol)/HOBt (0,23 g, 1,74 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, Methanol zugesetzt, kurz sonifiziert, der farblose Niederschlag abzentrifugiert, der Reihe nach mit Methanol, tert-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Titelverbindung wird als farbloses Pulver erhalten. Ausbeute: 0,50 g; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) $R_f = 0,3$; HPLC $t_R = 8,6$ min; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 2,52\text{--}2,70$, $2,95\text{--}3,05$, $3,09\text{--}3,17$ (3 m, 8H, $2\times\beta\text{CH}_2$ Phe(4-CN), $2\times\beta\text{CH}_2$ Asp), $3,56\text{--}3,75$ (br m, 4H, $2\times\alpha\text{CH}_2$ Gly), $3,60$ (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), $4,16$ (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}$ Asp), $4,53$ (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}$ Phe(4-CN)), $7,38\text{--}7,45$, $7,70\text{--}7,77$ (2 m, 8H, $2\times\text{C}_6\text{H}_4$ Phe(4-CN)), $7,95$, $8,24$, $8,37$ (3 m, 6H, $2\times\alpha\text{NH}$ Asp, $2\times\alpha\text{NH}$ Gly, $2\times\alpha\text{NH}$ Phe(4-CN)); ESI-MS: $m/z = 717,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_{10}$: 716,25.

A28. MeO-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-OMe

H-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-OMe \times HCl (0,21 g, 0,52 mmol, A14) gelöst in 15 ml DMF werden mit DIEA (0,09 mL, 0,52 mmol) neutralisiert, c[DAsp(OH)-Asp(OH)] (0,05 g, 0,22 mmol, A7) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,10 g, 0,52 mmol)/HOBt (0,06 g, 0,43 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (20 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4 : 1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung mit Essigester als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,13 g; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) $R_f = 0,6$; HPLC $t_R = 10,2$ min; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1,38$ (s, 18H, $2\times\text{C}(\text{CH}_3)_3$), $2,51\text{--}2,70$, $2,86\text{--}3,02$ (2 br m, 8H, $2\times\beta\text{CH}_2$ Phe(3-H₂NCH₂), $2\times\beta\text{CH}_2$ Asp), $3,57$ (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), $3,60\text{--}3,80$ (br m, 4H, $2\times\alpha\text{CH}_2$ Gly), $4,10$ (m, 4H, $2\times\text{CH}_2\text{NHBOC}$ Phe(3-H₂NCH₂)), $4,16$ (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}$ Asp), $4,30$ (m, 2H, $2\times\alpha\text{CH}$ Phe(3-H₂NCH₂)), $7,02\text{--}7,11$, $7,19\text{--}7,25$ (2 m, 8H, $2\times\text{C}_6\text{H}_4$ Phe(3-H₂NCH₂)), $7,32$ (m, 2H, $2\times\text{CH}_2\text{NHBOC}$ Phe(3-H₂NCH₂)), $7,92$, $8,17\text{--}8,82$, $8,34$ (3 m, 6H, $2\times\alpha\text{NH}$ Asp, $2\times\alpha\text{NH}$ Gly, $2\times\alpha\text{NH}$ Phe(3-H₂NCH₂)); ESI-MS: $m/z = 925,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{44}\text{H}_{60}\text{N}_8\text{O}_{14}$: 924,42.

A29. MeO-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-OMe

H-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH₂)-OMe \times HCl (0,125 g, 0,312 mmol, A14) gelöst in 10 ml DMF werden mit DIEA (0,054 ml, 0,312 mmol) neutralisiert, c[Asp(OH)-Asp(OH)] (0,030 g, 0,130 mmol, A4) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,059 g, 0,312 mmol)/HOBt (0,042 g, 0,312 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (20 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4 : 1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,103 g; DC (Chloroform/Methanol 4 : 1) $R_f = 0,7$; HPLC $t_R = 10,5$ min; ESI-MS: $m/z = 925,4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $\text{C}_{44}\text{H}_{60}\text{N}_8\text{O}_{14}$: 924,42.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen als Inhibitoren der Tryptase wertvolle pharmakologische Eigenschaften, die sie gewerblich verwertbar machen. Humane Tryptase ist eine Serinprotease, die in humanen Mastzellen das überwiegend vorliegende Protein darstellt. Tryptase umfaßt acht eng verwandte Enzyme ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1a$, $\beta 1b$, $\beta 2$, $\beta 3$, mMCP-7-like-1, mMCP-7-like-2; 85 bis 99% Sequenzidentität) (vgl. Miller et al., J. Clin. Invest. 84 (1989) 1188–1195; Miller et al., J. Clin. Invest. 86 (1990) 864–870; Vanderslice et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 87 (1990) 3811–3815; Pallaoro et al., J. Biol. Chem. 274 (1999) 3355–3362). Nur die β -Tryptasen (Schwartz et al., J. Clin. Invest. 96 (1995) 2702–2710; Sakai et al., J. Clin. Invest. 97 (1996) 988–995) werden jedoch intrazellulär aktiviert und in katalytisch aktiver Form in Sekretgranulen gelagert. Tryptase weist im Vergleich zu anderen bekannten Serinproteasen, wie zum Beispiel Trypsin oder Chymotrypsin einige besondere Eigenschaften auf (Schwartz et al., Methods Enzymol. 244, (1994), 88–100; G. H. Caughey, "Mast cell proteases in immunology and biology". Marcel Dekker, Inc., New York, 1995). Tryptase aus humanen Gewebe weist eine nicht kovalent verknüpfte tetramere Struktur auf, die durch Heparin oder andere Proteoglycane stabilisiert werden muß, um proteolytisch aktiv zu sein. Tryptase wird zusammen mit anderen Entzündungsmediatoren, wie z. B. Histamin und Proteoglycanen, freigesetzt, wenn humane Mastzellen aktiviert werden. Man vermutet deshalb, daß Tryptase bei einer Reihe von Erkrankungen, insbesondere bei allergischen und entzündlichen Erkrankungen eine Rolle spielt, zum einen aufgrund der Bedeutung der Mastzellen bei solchen Erkrankungen und zum anderen, da bei einer Reihe derartiger Erkrankungen ein erhöhter Tryptase-Gehalt festgestellt wurde. So wird Tryptase u. a. mit folgenden Krankheiten in Zusammenhang gebracht: Akute und chronische (insbesondere entzündliche und allergen induzierte) Atemwegserkrankungen verschiedener Genese (z. B. Bronchitis, allergische Bronchitis, Asthma bronchiale, COPD); interstitielle Lungenerkrankungen; Erkrankungen, die auf allergischen Reaktionen der oberen Atemwege (Rachenraum, Nase) und der angrenzenden Regionen (z. B. Nasennebenhöhlen, Augenbindehäute) beruhen, wie beispielsweise allergische Konjunktivitis und allergische Rhinitis; Erkrankungen aus dem Formenkreis der Arthritis (z. B. rheumatische Arthritis); Autoimmun-Erkrankungen wie Multiple Sklerose; desweiteren Periodontitis, Anaphylaxis, interstitiale Cystitis, Dermatitis, Psoriasis, Sklerodermie/systemische Sklerose, entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Inflammatory Bowel Disease) und andere. Tryptase scheint insbesondere direkt mit der Pathogenese von Asthma in Zusammenhang zu stehen (Caughey, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 16 (1997), 621–628; R. Tanaka, "The role of tryptase in allergic inflammation" in: Protease Inhibitors, IBC Library Series, 1979, Kapitel 3.3.1–3.3.23).

Weiterer Gegenstand der Erfindung sind die erfindungsgemäßen Verbindungen zur Anwendung bei der Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere den genannten Krankheiten.

Ebenso betrifft die Erfindung die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Krankheiten eingesetzt werden.

Weiterhin sind Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Krankheiten, die eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen enthalten, Gegenstand der Erfindung.

Die Arzneimittel werden nach an sich bekannten, dem Fachmann geläufigen Verfahren hergestellt. Als Arzneimittel werden die erfindungsgemäßen Verbindungen (= Wirkstoffe) entweder als solche, oder vorzugsweise in Kombination mit geeigneten pharmazeutischen Hilfsstoffen z. B. in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Pflastern, Emulsionen, Suspensionen, Gelen oder Lösungen eingesetzt, wobei der Wirkstoffgehalt vorteilhafterweise zwischen 0,1 und 95% beträgt.

Welche Hilfsstoffe für die gewünschten Arzneiformulierungen geeignet sind, ist dem Fachmann aufgrund seines Fachwissens geläufig. Neben Lösemitteln, Gelbildnern, Salbengrundlagen und anderen Wirkstoffträgern können beispielsweise Antioxidantien, Dispergiermittel, Emulgatoren, Konservierungsmittel, Lösungsvermittler oder Permeationspromotoren verwendet werden.

Für die Behandlung von Erkrankungen des Respirationstraktes werden die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt auch inhalativ appliziert. Hierzu werden diese entweder direkt als Pulver (vorzugsweise in mikronisierter Form) oder durch Vernebeln von Lösungen oder Suspensionen, die sie enthalten, verabreicht. Bezüglich der Zubereitungen und Darreichungsformen wird beispielsweise auf die Ausführungen im Europäischen Patent 163 965 verwiesen.

Für die Behandlung von Dermatosen erfolgt die Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen insbesondere in Form solcher Arzneimittel, die für eine topische Applikation geeignet sind. Für die Herstellung der Arzneimittel werden die erfindungsgemäßen Verbindungen (= Wirkstoffe) vorzugsweise mit geeigneten pharmazeutischen Hilfsstoffen vermischt und zu geeigneten Arzneiformulierungen weiterverarbeitet. Als geeignete Arzneiformulierungen seien beispielsweise Puder, Emulsionen, Suspensionen, Sprays, Öle, Salben, Fettsalben, Cremes, Pasten, Gele oder Lösungen genannt.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel werden nach an sich bekannten Verfahren hergestellt. Die Dosierung der Wirkstoffe bei systemischer Therapie. (p. o. oder i. v) liegt zwischen 0,1 und 10 mg pro Kilogramm und Tag.

Biologische Untersuchungen

Die dokumentierten pathophysiologischen Effekte der Mastzell-Tryptase werden direkt durch die enzymatische Aktivität der Protease bewirkt. Dementsprechend werden sie durch Inhibitoren, die die enzymatische Aktivität der Tryptase hemmen, reduziert bzw. blockiert. Ein geeignetes Maß für die Affinität eines reversiblen Inhibitors zur Zielprotease ist die Gleichgewichts-Dissoziationskonstante K_i des Enzym-Inhibitor-Komplexes. Dieser K_i -Wert kann über den Einfluß des Inhibitors auf die Tryptase-induzierte Spaltung eines chromogenen Peptid-p-Nitroanilid-Substrates oder eines fluorogenen Peptid-Aminomethylcumarin-Substrates bestimmt werden.

Methodik

Die Dissoziationskonstanten für die Tryptase-Inhibitor-Komplexe werden unter Gleichgewichtsbedingungen entsprechend den allgemeinen Vorschlägen von Bieth (Bieth JG, Pathophysiological Interpretation of kinetic constants of pro-

tease inhibitors, Bull. Europ. Physiopath. Resp. 16: 183–195, 1980) und den Methoden von Sommerhoff et al. (Sommerhoff CP et al., A Kazal-type inhibitor of human mast cell tryptase: Isolation from the medical leech *Hirudo medicinalis*, characterization, and sequence analysis, Biol. Chem. Hoppe-Seyler 375: 685–694, 1994) bestimmt.

Menschliche Tryptase wird aus Lungengewebe rein dargestellt oder rekombinant hergestellt; die mittels Titration bestimmte spezifische Aktivität der Protease beträgt üblicherweise größer 85% des theoretischen Wertes. Konstante Mengen der Tryptase werden in Gegenwart von Heparin (0,1–50 µg/ml) zur Stabilisierung der Protease mit aufsteigenden Mengen der Inhibitoren inkubiert. Nach Gleichgewichtseinstellung zwischen den Reaktionspartnern wird die verbleibende Enzymaktivität nach Zugabe des Peptid-p-Nitroanilid-Substrates tos-Gly-Pro-Arg-pNA bestimmt, dessen Spaltung über 3 min bei 405 nm verfolgt wird. Alternativ kann die enzymatische Restaktivität auch mit fluorogenen Substraten bestimmt werden. Die apparenten Dissoziationskonstanten K_{iapp} (d. h. in der Gegenwart von Substrat) werden anschließend durch Anpassung der Enzymgeschwindigkeiten an die allgemeine Gleichung für reversible Inhibitoren (Morrison JF, Kinetics of the reversible inhibition of enzymecatalysed reactions by tight-binding inhibitors, Biochim. Biophys. Acta 185, 269–286, 1969) mittels nicht linearer Regression ermittelt:

$$V_i/V_0 = 1 - \{E_t + I_t + K_{iapp} - [(E_t + I_t + K_{iapp})^2 - 4E_t I_t]^{1/2}\} / 2E_t$$

Dabei sind V_i und V_0 die Geschwindigkeiten in der Gegenwart bzw. Abwesenheit des Inhibitors und E_t und I_t die Konzentrationen der Tryptase und des Inhibitors.

Die für die erfindungsgemäßen Verbindungen ermittelten apparenten Dissoziationskonstanten ergeben sich aus der folgenden Tabelle A, in der die Nummern der Verbindungen den Nummern der Verbindungen in den Beispielen entsprechen.

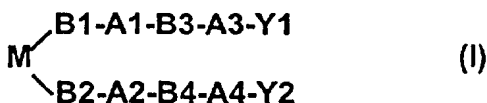
Tabelle A

Hemmung der humanen Tryptase

Verbindung	K_{iapp} (µM)
1	1,6
2	2,5
3	0,2
4	0,6
5	0,018
6	0,03

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I

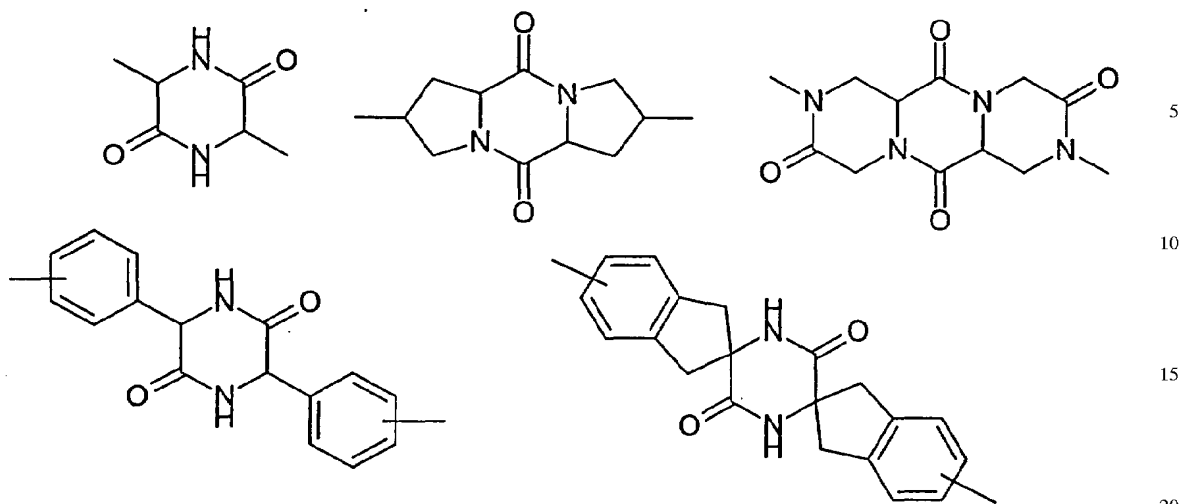


worin

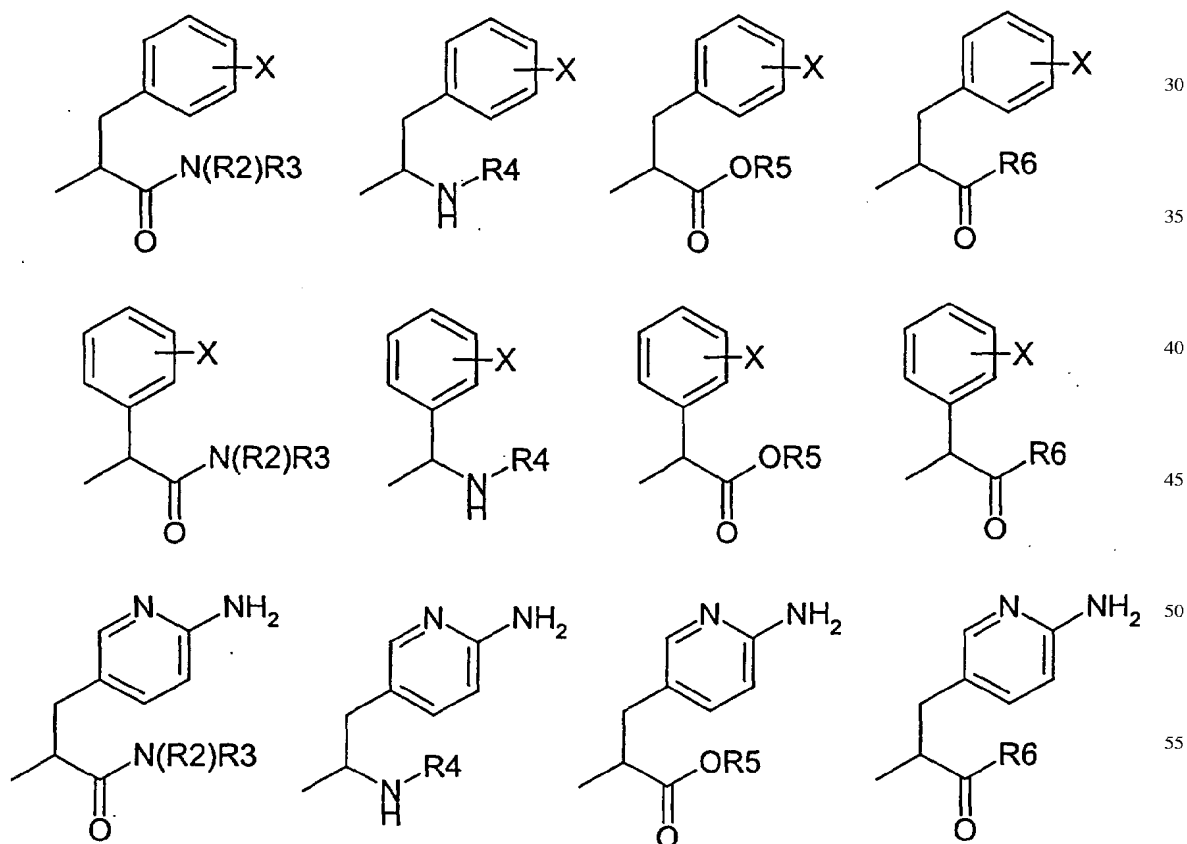
A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -S- (Schwefel), -S(O)₂-NH-, -NH-S(O)₂-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -C(S)-NH-, -NH-C(S)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -S(O)₂-NH-, -NH-S(O)₂- oder eine Bindung bedeuten,

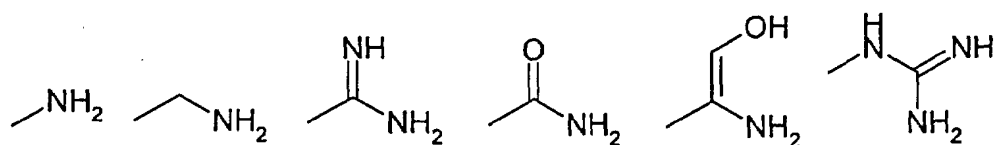
M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,
 B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,
 B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung, 1-4C-Alkylen oder -C(R11)R12- bedeuten,
 wobei R11 und R12 zusammen und unter Einschluß des Kohlenstoffatoms an das beide gebunden sind, einen spiro-
 verknüpften 3-, 4-, 5- oder 6-gliedrigen gesättigten Kohlenwasserstoffring darstellen,
 Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



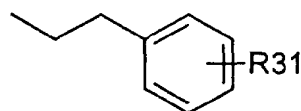
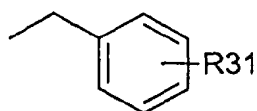
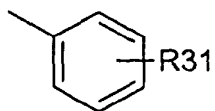
wobei
 X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

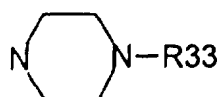
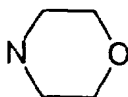
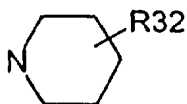
R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

5



10

oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschuß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



15

wobei

R31 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder 1-4C-Alkoxy bedeutet,

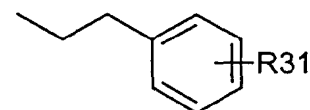
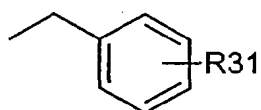
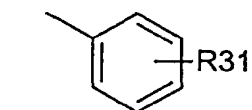
R32 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxycarbonyl, Phenyl-1-4C-alkoxycarbonyl, Carboxyl, Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonyl und

20

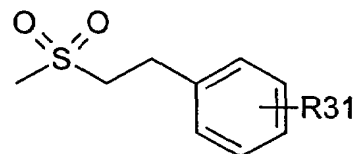
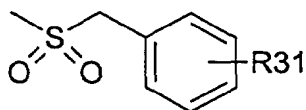
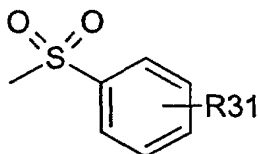
R33 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl oder Hydroxymethylcarbonyl bedeuten,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

25

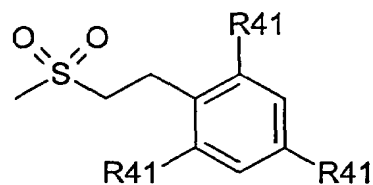
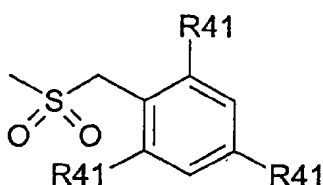
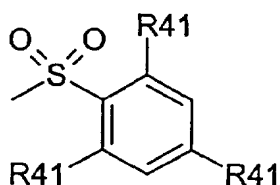


30



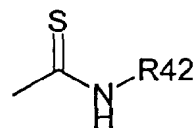
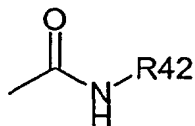
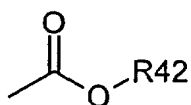
35

40



45

50



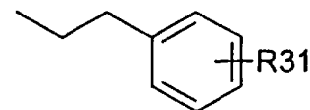
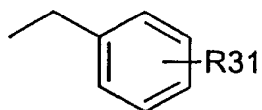
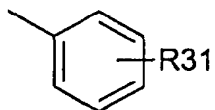
wobei

R41 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl, und

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

R5 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

60



R6 Wasserstoff, -C(O)-OR61 oder -C(O)-NHR61 bedeutet, wobei

R61 1-4C-Alkyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten

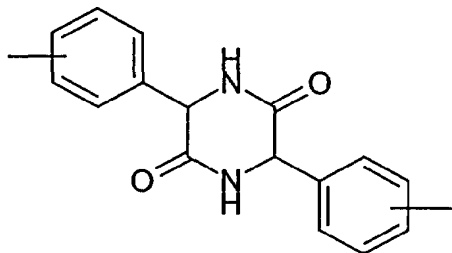
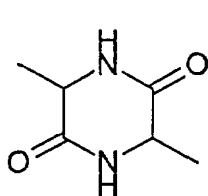
Verknüpfung zweier Heteroatome, zweier Carbonylgruppen oder zweier Sulfonylgruppen kommen würde.

2. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

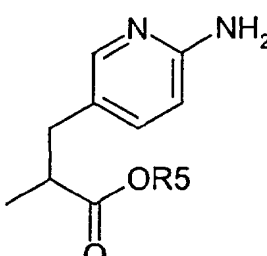
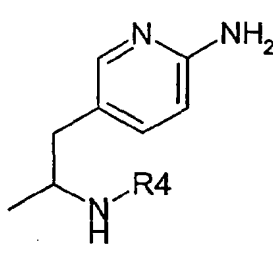
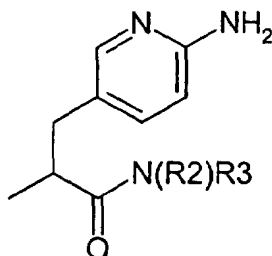
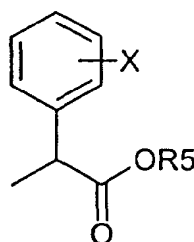
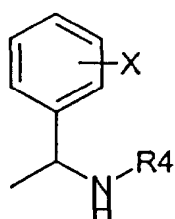
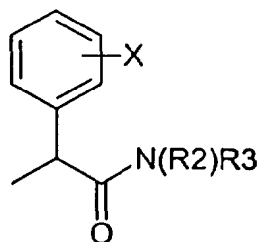
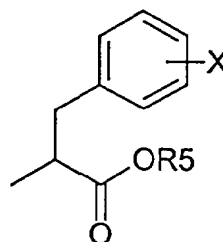
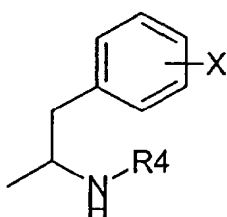
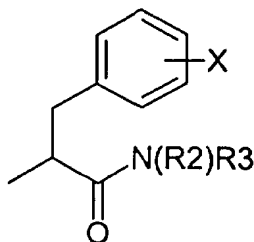


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

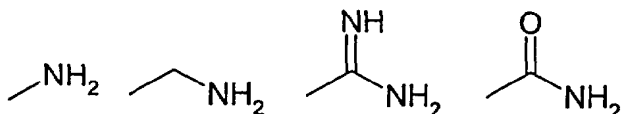
B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

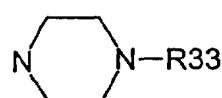
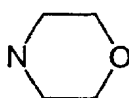
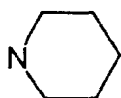
X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder Benzyl bedeutet,

oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

R33 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl bedeutet,

R5 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

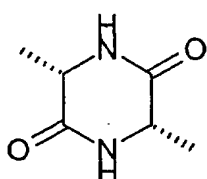
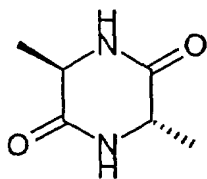
sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome oder zweier Carbonylgruppen kommen würde.

3. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NH-C(O)- bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

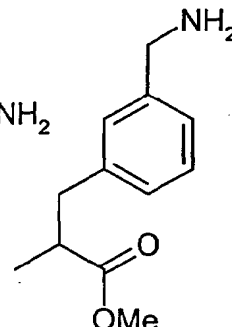
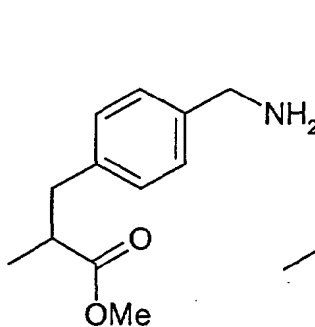
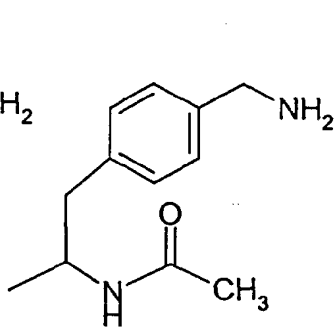
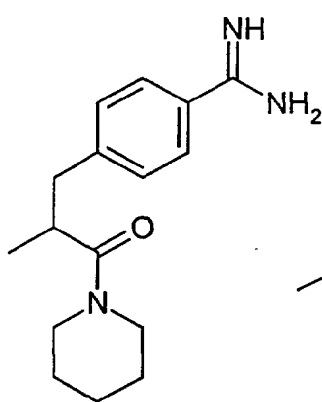


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-2C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

4. Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen.

5. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 mit der chemischen Bezeichnung

(3S,6S)-3,6-Di-([3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([4-(2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin; und

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

sowie die Salze dieser Verbindungen.

6. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 zur Behandlung von Krankheiten.

7. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 zur Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Atemwegserkrankungen.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -